

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 307

Travail de la Clinique Médicale Infantile et Hygiène du Premier âge
(Professeur G. MOURIQUAND)

ETUDE SUR LE LAIT

Calcium, phosphore, rapport calcium-phosphore
et activité anti-rachitique de différents laits

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION DE PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 16 Juin 1941

PAR

Jean EHRWEIN

Interne en Pharmacie des Hôpitaux de Lyon

Diplômé de Bactériologie

Né le 11 Mars 1913, à THAON-LES-VOSGES (Vosges)



LYON

BOSC Frères M. & L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

42, Quai Gailleton, 42

1941

ÉTUDE SUR LE LAIT

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 307

Travail de la Clinique Médicale Infantile et Hygiène du Premier âge
(Professeur G. MOURIQUAND)

ETUDE SUR LE LAIT

Calcium, phosphore, rapport calcium-phosphore
et activité anti-rachitique de différents laits

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION DE PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 16 Juin 1941

PAR

Jean EHRWEIN

Interne en Pharmacie des Hôpitaux de Lyon

Diplômé de Bactériologie

Né le 11 Mars 1913, à THAON-LES-VOSGES (Vosges)



LYON

BOSC Frères M. & L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

42, Quai Gailleton, 42

1941

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire.....
Doyen
Assesseur

M. L. HUGOUNENQ.
M. J. LEPINE.
M. A. MOREL.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. LANNOIS, HUGOUNENQ, PIC, CONDAMIN, PAVIOT,
NICOLAS, VILLARD, NOVE-JOSSERAND, TIXIER, COLLET, GAYET, CLUZET
BERARD, COURMONT, GUIART, PIERY

PROFESSEURS

Cliniques médicales.....
Cliniques chirurgicales.....
Clinique obstétricale et Accouchements.....
Clinique ophtalmologique
Clinique dermatologique et syphilligraphique.....
Clinique neurologique et psychiatrique.....
Clinique médicale infantile
Clinique gynécologique
Clinique d'oto-rhino-laryngologie
Clinique urologique
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....
Clinique et prophylaxie de la tuberculose.....
Clinique des maladies infectieuses.....
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie.....
Chimie biologique et médicale.....
Chimie organique et Toxicologie.....
Matière médicale et Botanique.....
Parasitologie et Histologie naturelle médicale.....
Anatomie
Histologie
Physiologie
Pathologie interne.....
Pathologie générale et thérapeutique.....
Anatomie pathologique.....
Chirurgie opératoire.....
Médecine expérimentale et comparée et Bactériologie.....
Médecine légale.....
Hygiène
Pharmacologie et Pharmacologie.....
Hydrologie thérapeutique et Climatologie.....

MM. FROMENT.
SAVY.
PATEL.
LERICHE (en mission)
VORON.
BONNET.
FAVRE.
LEPINE (J.).
MOURIQUAND.
COTTE.
REBATTU.
CIBERT.
TAVERNIER
X...
J. CHALIER
PONTUS.
FLORENCE.
MOREL.
MANCEAU.
X...
LATARJET.
POLICARD.
HERMANN.
CORDIER.
CADE.
J.-F. MARTIN.
SANTY.
ARLOING (F.).
MAZEL.
ROCHAIX.
LEULIER
X...

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours d'Anatomie médico-chirurgicale.....
Chargé d'un cours d'Embryologie.....

MM. THEVENOT (Léon)
NOEL.

AGREGES

MM.
GABRIELLE
CHAMBON
REVOL
ENSELME
SEDALLIAN
CREYSSEL
DE ROUGEMONT

MM.
P. RAVAUULT
PIGEAUD
CROIZAT
DELORE
JOSSERAND
MORIN
BERTRAND

MM.
CLAVEL
LEVRAT
BANSSILLON
MALLET-GUY
ROMAN
PEYCELON
JOURDAN

MM
FROMENT (R.).
MARTIN (P.-E.)
MOUNIER-KUHN
BROSSY
PIFFAULT

EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. MOURIQUAND, *Président* ; LEULIER, *Assesseur*.

CHAMBON et REVOL.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

MEIS ET AMICIS

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR G. MOURIQUAND
Professeur de Clinique Médicale Infantile
Officier de la Légion d'Honneur

A MES JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. LEULIER
Professeur de Pharmacie et de Pharmacologie
Officier de la Légion d'Honneur

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ CHAMBON
Pharmacien des Hôpitaux
Chevalier de la Légion d'Honneur

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ REVOL
Pharmacien des Asiles

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE DE LYON

A MES CAMARADES D'INTERNAT

AVANT-PROPOS

Avant d'aborder le sujet de notre travail, notre premier devoir est d'exprimer nos remerciements à ceux qui ont contribué à notre formation actuelle.

Au cours de notre passage dans les Hôpitaux, il nous a été donné d'entrer dans le service de Monsieur le Professeur Mouriquand. Il voulut bien nous accepter dans son laboratoire. Nous avons pu apprécier les qualités de son enseignement. En le remerciant bien vivement de l'intérêt qu'il nous a porté, nous prions Monsieur le Professeur MOURIQUAND d'accepter l'hommage de notre respectueuse admiration.

Pendant nos études, il nous fût permis d'entrer dans le laboratoire de Monsieur le Professeur LEULIER. Il nous initia aux règles de la chimie. Au cours de l'élaboration de cette thèse, il nous aida de ses encouragements et de ses conseils. Nous prions Monsieur le Professeur Leulier de croire en notre profonde admiration et en notre vive reconnaissance.

Monsieur le Professeur Agrégé CHAMBON fut notre maître à la Faculté et dans les Hôpitaux. Il sut nous guider dans l'acquisition de nos connaissances biologiques et ses conseils furent pour nous de la plus grande utilité. Qu'il trouve ici le témoignage de notre

profonde gratitude et de notre respectueux attachement.

Monsieur le Professeur REVOL, en acceptant d'être notre juge, fait preuve, une fois de plus, de la bienveillance qu'il n'a cessé de nous témoigner. Nous avons bien souvent pu apprécier la valeur de ce Maître qui nous fit le don précieux de son amitié. Nous voudrions qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance émue et de notre entier dévouement.

Nous avons rencontré à l'Internat d'excellents camarades et de véritables amis. Nous ne sommes pas près d'oublier tous les souvenirs qui nous lient à eux.

PLAN

Chapitre I

LE CALCIUM DANS LES LAITS

- a) Historique.
- b) Travaux personnels.
- c) Discussion de nos résultats.

Chapitre II

LE PHOSPHORE DANS LES LAITS

- a) Historique.
- b) Travaux personnels.
- c) Discussion de nos résultats.

Chapitre III

LE RAPPORT CALCIUM-PHOSPHORE DANS LES LAITS

- a) Historique.
- b) Discussion de nos résultats.

Chapitre IV

COMPARAISON ENTRE LES PROPRIÉTÉS ANTIRACHITIQUES DES LAITS

- a) Etude du lait de vache.
- b) Comparaison du lait de femme et du lait de vache.

CONCLUSIONS

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

LE RACHITISME

I. — Le rachitisme humain

Mouriquand, Leulier [93] et Mme V. Edel [31] distinguent chez le nourrisson deux types de rachitisme : le rachitisme eutrophique et le rachitisme dystrophique.

LE RACHITISME EUTROPHIQUE. — C'est le rachitisme classique. Il atteint généralement les nourrissons après six mois. L'enfant a un poids normal, il ne présente pas de troubles digestifs, reste inerte et indifférent à tout. Il montre de l'intumescence des poignets, des cou-de-pieds, des genoux et quelques déformations caractéristiques du squelette : incurvation des tibias et des fémurs, bourrelets sus-malléolaires, chapelet costal, frontanelles peu ou mal soudées.

Toutes ces anomalies touchent le système osseux. C'est ce que confirme la radiographie : elle montre une désimprégnation calcaire de la tranche cartila-

gineuse des os longs, une disparition plus ou moins complète des points d'ossification, un aspect peigné de la ligne d'ossification diaépiphysaire. Ces lésions s'accompagnent, comme l'a déjà montré Gassmann [39] en 1911, d'une diminution du taux du calcium et du phosphore dans les os.

Au point de vue sanguin, le phosphore, dont le taux normal est de 50 mgr. pour 1.000 cc. de sérum, est toujours abaissé aux environs de 30 mgr.. Le calcium, dont le taux normal est de 100 mgr. pour 1.000 cc. de sérum, n'est pas toujours abaissé : il reste normal dans le rachitisme simple, mais il descend à 50 mgr. pour 1.000 cc. de sérum dans les formes accompagnées de tétanie.

Cette forme de rachitisme est facilement guérie par quelques séances de rayons U.V., par de faibles doses d'ergostérol ou par des doses plus fortes d'huile de foie de morue. Elle peut être évitée par l'absorption préventive de vitamine D.

LE RACHITISME DYSTROPHIQUE. — Dans ce cas, les enfants de poids inférieur à la normale sont atteints de troubles digestifs. Les intumescences et les déformations signalées dans le rachitisme eutrophique sont moins marquées. Radiographiquement, l'état peigné est moins net. Cette forme de rachitisme offre une résistance plus ou moins grande, mais toujours importante, au traitement par les rayons U.V.. Il s'agit, selon Mouriquand, d'un véritable « refus » des os à la fixation calcique.

II. — Le rachitisme expérimental

Pour faciliter l'étude du rachitisme, on a essayé de reproduire cette dystrophie osseuse chez l'animal. Mellanby [91], le premier, a pu réaliser le rachitisme expérimental. Après lui, de nombreux chercheurs, parmi lesquels Mac Collum, Simmonds, Shipley et Park [84], Hess [49], Shohl [134], Sherman et Pappenheimer [132], ont étudié quels étaient les facteurs susceptibles de provoquer un rachitisme expérimental aussi proche que possible du rachitisme humain. La carence solaire est le principal de ces facteurs. Les autres touchent le régime.

Les différents régimes rachitigènes ont été examinés par Mouriquand et Leulier [94] au Congrès de Liège en 1930. Aucun régime ne comporte, bien entendu, de vitamine D. Cette étude montre que les variations portent principalement sur le rapport calcium-phosphore et sur la réaction du régime.

Le rapport calcium-phosphore fut étudié pour la première fois en 1921 par Mac Collum, Simmonds, Shipley et Park [83]. D'après eux, il est plus intéressant d'étudier le rapport entre le calcium et le phosphore que la somme absolue de ces deux sels ; et le rapport calcium-phosphore doit être supérieur à 1,5. En 1924, Goldblatt [42] confirme ces données : ce rapport serait, d'après lui, nécessaire pour obtenir le rachitisme, et semblerait déterminer à lui seul l'évolution de la maladie. C'est la thèse soutenue aussi par Shohl, Brown, Rose et Sauerwein [134] en 1932.

En ce qui concerne la réaction du régime, on a pu constater une augmentation du pH intestinal chez les animaux soumis à un régime rachitigène ; on a également pu guérir le rachitisme chez des enfants en acidifiant leur régime (Jones [60]) ; on a enfin pu prévenir le rachitisme par l'administration de sels plus acides. Cependant, il ne semble pas, d'après Villette [151] que le pH du régime ait une grande importance. Cet auteur n'est pas parvenu à empêcher le rachitisme de s'installer chez le rat par l'addition de ferments lactiques à son régime.

En résumé, l'étude du rachitisme clinique et du rachitisme expérimental nous conduit au résultat suivant : étant donné un certain nombre de facteurs favorables au développement du rachitisme (carence solaire, croissance), le rachitisme ne se développe que si l'organisme se trouvait déjà en état de déséquilibre. De plus, ce déséquilibre porte presque uniquement sur le phosphore et le calcium.

Or, l'étude de la phosphatémie et de la calcémie nous montre que, sauf pour les cas de spasmophilie et de rachitisme affirmé, il n'existe pratiquement pas de variations du taux du calcium chez l'enfant, que celui-ci soit nourri au biberon ou au sein. En effet, dans le premier cas, les enfants possèdent, avant l'action du facteur de révélation, tous les attributs des enfants normaux. Un examen plus approfondi des causes du rachitisme chez le nourrisson nous prouve que les mêmes facteurs rachitigènes n'influent pas sur les enfants allaités au sein, mais qu'ils agissent sur les enfants nourris au biberon. On en déduit

que le lait de vache crée un déséquilibre phosphocalcique inapparent chez le nourrisson. Comme l'a dit Marfan [88], « le lait humain est un aliment spécifique pour la nutrition de l'enfant pendant le premier âge ».

Il faut donc orienter nos recherches vers l'étude biochimique du lait de femme et des différents laits ingérés par les enfants au biberon. Deux éléments sont essentiels, l'étude du rachitisme le révèle. Ce sont le calcium et le phosphore et le rapport qui les lie. C'est à l'étude de ces deux éléments que nous nous sommes attaché.

Ce travail comprendra donc plus particulièrement une étude comparative des teneurs en calcium et en phosphore du lait de femme, du lait de vache frais, bouilli et pasteurisé, des différents laits conservés et des babeurres. De ces aliments habituels du nourrisson, nous avons rapproché, en une étude brève, les laits de chèvre et de brebis : ceux-ci sont moins couramment utilisés pour l'alimentation du nourrisson, en raison de leur plus grande rareté, de leur manque de constance, et surtout par suite de la très grande facilité avec laquelle ces animaux s'infectent. (Moussu [98]).

CHAPITRE PREMIER

LE CALCIUM DANS LES LAITS

Historique

Dans les premières études faites sur le rachitisme, on s'est plus particulièrement intéressé au devenir du calcium et du phosphore. En ce qui concerne le calcium, Schabad [123], dans des travaux qu'il résume et complète en 1912, estime que le rachitisme est dû à un apport insuffisant de calcium. Pour lui, la teneur en calcium serait de 0,314 gr. pour 1.000 pour le lait de mère d'enfant sain, et de 0,278 gr. pour 1.000 pour le lait de mère d'enfant rachitique. C'était déjà le point de vue de Bahrddt et Edelstein [5] (1910). Cette opinion est infirmée par de Buys et von Meysenburg [18] (1924). Ceux-ci notent dans des laits de mères d'enfants rachitiques, un pourcentage de calcium variant de 0,184 gr. à 0,396 gr. pour 1.000, la moyenne étant de 0,326 gr. pour 1.000. Et, pour eux, dans quelques-uns des cas de rachitisme les plus graves, le calcium du lait est normal. Quant à Telfer [144] (1924), il trouve un taux de calcium égal (moyenne 0,335 gr. pour 1.000), qu'il y ait ou non rachitisme.

Hunaeus [56] (1909), Schabad [123] (1912) et Telfer [144] (1924), remarquent qu'il existe une diminution graduelle du taux du calcium dans le lait au cours de la lactation. Stransky [142] (1927) confirme ce fait, et il établit que, si les premières gouttes de lait renferment environ 0,820 gr. pour 1.000 de calcium, le lait normal pendant la période d'allaitement n'en contient que 0,410 gr. Ce chiffre s'abaisse ensuite jusqu'à 0,289 gr. pour 1.000. Widdows [159] (1930) serre la question de plus près ; il constate un accroissement du taux de calcium jusqu'à la fin du deuxième mois. A ce moment, le volume du lait ingéré par l'enfant augmente. Au cours du troisième mois, le taux du calcium ne varie pas, de même que la ration de l'enfant. Après le troisième mois, la diminution du calcium est contrebalancée par l'augmentation de la ration de lait. En résumé, la quantité de calcium ingérée par jour par l'enfant augmente de la première semaine au deuxième mois, puis elle reste constante jusqu'au moment du sevrage.

Telfer [144] signale aussi une différence entre le lait de femme habitant la campagne (0,300 gr. pour 1.000) et le lait de femme habitant la ville (0,335 gr. pour 1.000).

Enfin, en ce qui concerne le moment du prélèvement (début ou fin de la tétée), Myers [99] établit qu'il n'influe pas sur le contenu minéral du lait. Les variations enregistrées par certains auteurs (Schabad [123] et Hunaeus [56]), sont, d'ailleurs, assez peu sensibles. Schabad trouve une différence de 6 à 7 pour 100 en plus ou en moins suivant les cas. Hunaeus note une variation de 4,20 pour 100.

En ce qui concerne le calcium du lait de vache, certains auteurs se sont attachés à l'étude des variations produites par l'introduction de substances anti-rachitiques. Hart et Steenbock [48], en particulier, ont comparé le lait de vaches soumises à un régime normal et le lait de vaches soumises à un régime additionné de vitamine D. Ils n'ont pas constaté de différence.

On s'est aussi inquiété de savoir si la chaleur produisait une modification des éléments minéraux du lait. Mme Desoille [28] note que le calcium total est le même pour les laits de vache crus (1,100 gr. pour 1.000) et pour les laits chauffés (de 1,130 gr. à 1,160 gr. pour 1.000).

L'étude des variations suivant les saisons de la teneur en calcium du lait de vache a retenu l'attention de Blanchetière [10] (1925) qui, d'accord avec Van Slyke [147], Desbarrières [27], Ragsdale et Turner [112], affirme que le lait d'été est moins riche que le lait d'hiver. Il explique que cette différence est due à la plus grande fixation de calcium par l'organisme en été, par suite de l'ingestion de vitamine A. Il donne une moyenne de 1,110 gr. pour 1.000 pour les laits d'été et de 1,350 gr. pour 1.000 pour les laits d'hiver.

Tous les résultats concernant la teneur en calcium des laits étudiés par les différents auteurs se trouvent consignés dans le tableau I. Ils sont exprimés en grammes par litre, sauf pour les laits concentrés. Quelques chiffres étaient donnés en grammes par kilogramme: nous les avons convertis en grammes par litre en tenant compte de la moyenne des densités

TABLEAU I
Ca ‰ de lait.

AUTEURS	Fem- me	Va- che	Anes- se	Chè- vre	Bre- bis	Truie	Chien- ne	Ju- ment	Rate	La- pine	Cha- melle	Re- narde	Concentrés non sucrés
Aberhakien (1).....	0,253	1,170		1,45	1,81	1,83							
Blanchetière (10).....		1,120											
Bunge (17).....		1,140								6,57			
Clark (21).....		1,270											
Corley et Denis (24).....	0,267	1,210											
Cox et Mueller (25).....	0,340	1,220											
De Buys et von Meysenburg (18).....	0,284								3,40				
Desotille (28).....		1,125											
Dudlaux (29).....		1,270											
Fleischmann (36).....		1,148											
Hart et Steendack (48).....		1,140											
Holt (53).....	0,310												
Hunaeus (56).....	0,314												
Lambling (70).....	0,235	1,140											
Lampitt (71).....		1,000											
Lavialle (74).....													
Lyman (82).....		1,083											
Outhouse (103).....		1,000											
Pagès (195).....	0,300												
Farhon (106).....	0,142	1,143	1,07	1,40	2,14		2,12	0,428			1,21		2,40
Porcher (108).....													
Rossi (119).....	0,267	1,140											
Schabad (123).....	0,228												
—	0,296												
Schall (124).....	0,292												
Sherman (131).....	0,281												
Solders (136).....		1,200											
Stransky (142).....		1,360											
Telfer (144).....	0,410												
Trillat et Piresier (145).....	0,323												
Van Slyke (148).....		1,360											
Widdows (159).....					1,82								
Young (160).....	0,361												

mentionnées par Leprince et Lecoq [76] et par Pellerin [107].

Pour nous, en vue du dosage du calcium et du phosphore, nous avons prélevé le lait chez des mères dont les enfants étaient en bonne santé et nous avons noté la période de lactation.

Travaux personnels

Nous allons donc exposer successivement les différents modes de prélèvement, ainsi les prises d'essai effectuées, les différentes méthodes de minéralisation, la méthode de dosage que nous avons utilisée et les résultats que nous avons obtenus.

1° PRÉLÈVEMENTS

Ils diffèrent avec les laits utilisés :

1. — LAIT DE FEMME.

A l'aide d'un tire-lait électrique, nous avons prélevé le lait total à l'heure de la deuxième tétée, heure à laquelle la composition du lait est la plus constante. Tous les prélèvements ayant été effectués au même moment de la journée, les résultats obtenus sur un échantillon moyen sont donc comparables.

2. — LAIT DE VACHE.

a) *Lait frais.* — Nous avons examiné le lait fourni à la Cuisine Diététique de la Clinique Médicale Infantile dirigée par M. le Professeur Mouriquand. Un lait de l'hiver 1938 a été étudié cru et pasteurisé ;

un lait du printemps 1939 a été étudié cru et bouilli 15 minutes à l'air libre.

b) *Lait concentré et homogénéisé.* — Nous nous sommes procuré des laits de 1938 et 1939 d'une même origine.

c) *Lait concentré.* — Nous avons comparé les laits de deux marques et de deux années : 1938 et 1939.

d) *Laits en poudre.* — Nous avons pu avoir des laits de trois marques de l'année 1939 : un lait entier, un lait demi-écrémé, sucré, additionné de 15 pour 100 de maltose-dextrine et un lait acidifié.

e) *Lait vitaminé.* — Nous avons disposé de laits secs irradiés de deux origines différentes et d'une même année : 1939.

f) *Babeurres.* — Il nous a été possible de travailler sur des babeurres gras, des babeurres maigres et des babeurres pulvérisés, tous de l'année 1939.

3. — LAIT DE CHÈVRE ET DE BREBIS.

Nous n'avons pu examiner qu'un échantillon de ces laits de l'été 1939.

2° PRISES D'ESSAI

Les prises d'essai sont cinq fois plus fortes pour le lait de femme que pour le lait de vache.

1. — LAITS LIQUIDES. — Nous prélevons 5 cc. pour le lait de femme et seulement 1 cc. pour les laits de vache, de chèvre et de brebis.

2. — BABEURRES. — Une prise d'essai de 1 cc. est suffisante pour les babeurres liquides. Pour les babeurres pulvérisés, nous pesons 1 gr.

3. — LAITS CONCENTRÉS. — On pèse par double pesée, dans une capsule de platine tarée, un échantillon moyen voisin de 1 gr.

4. — LAITS EN POUDRE. — Sur une prise d'essai de 1 gr., on calcule l'humidité du lait. Une nouvelle prise d'essai de 1 gr. sert pour les dosages de calcium et de phosphore.

3° MINÉRALISATION

Rothwell a utilisé, pour le dosage du calcium du lait humain [121] et du lait de vache [120], une méthode très simple qui consiste à précipiter directement le calcium du lait et à le doser par manganimétrie. Par un tel procédé, tout le calcium n'est pas précipité. Cette technique a donc été abandonnée, et toutes les méthodes du dosage du calcium du lait comprennent au préalable, soit une défécation trichloracétique (Rauschning [115] et Sanders [122]), soit une minéralisation nitrosulfurique ou permanganique, soit une digestion, soit une calcination.

La méthode nitrosulfurique classique, dite de Neumann [100], consiste à minéraliser par chauffage prudent, dans un matras de Kjeldahl, la prise d'essai en présence d'acide sulfurique pur et d'acide nitrique pur. Cette méthode présente pour l'étude du lait un grand inconvénient, car elle laisse non transformés les globules graisseux.

La technique de la destruction nitro-permananganique préconisée par Laudat [73] (*in* Fiessinger [34]), et légèrement modifiée par Massot et Les-

tra [90], a été également étudiée par Schall [124]. Cet auteur reproche à ce procédé de laisser insolubles une grande partie des ions Mn formés.

Corley et Denis [24] soumettent à l'autoclave pour digestion, en milieu alcalin, une heure à 160°, une prise d'essai égale à 1 cc. de lait de vache ou à 5 cc. de lait de femme. Au bout de ce temps, on obtient une solution claire.

Ces mêmes auteurs utilisent, comme témoin de leur méthode par hydrolyse, une technique par incinération. Ils calcinent leur prise d'essai au four à moufle dans un récipient de silice.

Nous avons utilisé la méthode par calcination qui présente l'avantage de convenir à la fois au dosage du calcium et du phosphore et de détruire tous les globules graisseux. Nous verrons plus loin pourquoi elle peut s'adapter au dosage du phosphore.

Le prélèvement du lait et la prise d'essai ayant été effectués comme nous l'avons dit plus haut, on introduit la substance à étudier dans une capsule de platine de 1 cm. de diamètre pour les prises d'essai de 1 cc., de 5 cm. de diamètre pour les prises d'essai de 5 cc.. Ceci a une importance, car, si le diamètre est suffisant, la pellicule qui se forme lors de l'évaporation crève sans entraîner de pertes par projections. On évapore à sec au bain-marie, puis on calcine jusqu'à obtention de cendres blanches. On doit agir avec prudence, car, ainsi que l'ont dit Villiers et Fayolle [152] et Kling [65], un chauffage trop intense entraînerait la volatilisation des chlorures alcalins ; et, d'autre part, les sels alcalins en fondant en-

roberaient le charbon non brûlé et s'opposeraient ainsi à sa combustion. On reprend les cendres par l'acide chlorhydrique à 5 pour 100 et on complète avec le même acide à 10 cc. dans un ballon jaugé. On obtient ainsi la solution I qui servira pour le dosage du calcium et pour celui du phosphore.

4° MÉTHODES DE DOSAGE

Nous exposerons brièvement les différents procédés qui ont été proposés pour le dosage du calcium et nous étudierons en détail la méthode que nous avons utilisée.

Parmi les nombreuses techniques de dosage du calcium dans les laits, la plupart utilisent la précipitation du calcium sous forme d'oxalate et son dosage par acidimétrie ou par manganimétrie. Ces méthodes diffèrent entre elles, mais elles s'inspirent toutes du procédé que Hirth [52] a appliqué au dosage du calcium sanguin.

Alors que Mac Crudden [86] réalise la précipitation de l'oxalate de calcium en milieu acétique, Richards [117] l'effectue en milieu neutre après avoir éliminé le fer et le phosphore : le magnésium reste dissous grâce à un excès d'oxalate d'ammonium et de chlorure d'ammonium. Ces deux méthodes n'offrent pas une sensibilité suffisante. Hirth [52], après avoir calciné, élimine le fer et l'acide phosphorique ; puis, il précipite le calcium par l'acide oxalique en présence d'ammoniaque et d'oxalate d'ammonium. Ce précipité, calciné, est dissous dans un volume

connu d'acide sulfurique titré dont on dose l'excès par une solution de soude.

Guillaumin [45] reproche à la technique de Hirth de comporter des temps inutiles. Il préconise, après une minéralisation nitro-perchlorique, une précipitation de l'oxalate de calcium à pH 5. Après centrifugation et lavage à l'oxalate d'ammonium, il entraîne le précipité dans un creuset de platine et le soumet à l'incinération électrique. Il termine par un dosage alcalimétrique. A défaut d'incinération électrique, on peut effectuer le titrage par le permanganate de potassium à froid en milieu sulfurique, suivant le procédé de Leulier et Griffon. On est certain ainsi de ne pas entraîner de phosphore ni de magnésium.

Nous avons utilisé la méthode de Velluz et Deschazeaux [149]. Ces auteurs s'appuient sur les observations suivantes : les techniques proposées pour le dosage du calcium sont basées sur la précipitation de l'oxalate de calcium à chaud ou à froid, en milieu ammoniacal ou acétique. L'oxalate est lavé, soit à l'eau distillée ou ammoniacale, soit à l'aide d'une solution d'oxalate d'ammonium. Dans ce dernier cas, on calcine l'oxalate de calcium et l'on dose la chaux ainsi obtenue ; dans les autres cas, l'oxalate est dosé par manganimétrie. Pour un pH compris entre 4 et 6, si le temps de la précipitation est suffisant (maximum 1 heure), l'oxalate de calcium n'entraîne pas de magnésium. Mais, constatent Velluz et Deschazeaux, des pertes peuvent avoir lieu soit par solubilisation de l'oxalate calcique dans l'eau distillée, soit par entraînement mécanique de ce sel au cours des lavages.

Enfin, l'oxydation manganique finale effectuée à chaud peut conduire à des erreurs par excès. A la suite de ces observations, ces auteurs proposent deux modifications : ils effectuent les lavages à l'aide d'un solvant organique dans lequel l'oxalate de calcium est insoluble, et ils oxydent à froid par le permanganate de potassium dont l'excès est titré par iodométrie (modification inspirée de celle de Leulier, Velluz et Griffon [79] dans le microdosage du potassium et de l'acide oxalique).

5° MÉTHODE DE VELLUZ ET DESCHAZEUX [150]

a) *Réactifs nécessaires.*

— Solution d'acide acétique cristallisable à 0,5 %.

— Solution d'oxalate de NH_4 approximativement N/10.

— Mélange :

alcool à 95°	18 cc.
éther	18 cc.
eau distillée	15 cc.

— Mélange :

alcool à 95°	P. E.
éther	

— Solution d'acide sulfurique pur à 5 %.

— Solution de sulfate manganeux à 1 %.

— Solution mère de permanganate de potassium N/10,

pour dilution extemporanée à N/150.

— Iodure de potassium vérifié pur, exempt d'iode libre et d'iodates.

— Solution mère d'hyposulfite de sodium N/10,
pour dilution extemporanée à N/200.

b) *Mode opératoire.*

On évapore à siccité au bain-marie, dans une capsule de platine, n cc. de la solution I. La capsule étant refroidie, on reprend le résidu par 10 cc. exactement mesurés d'une solution d'acide acétique cristallisable à 0,5 cc. pour 100. On agite pour obtenir une solution homogène. On introduit dans un tube à centrifuger 4 cc. de la solution ainsi obtenue. On ajoute 0,5 cc. d'une solution d'oxalate d'ammonium approximativement N/10. Le tube est maintenu vertical pendant 30 minutes. On centrifuge à grande vitesse, on décante et on remet le précipité en suspension dans 4 cc. environ du mélange alcool-éther-eau. Après centrifugation, décantation et deux lavages successifs identiques au premier, on lave l'oxalate calcique une fois à l'alcool-éther et une dernière fois à l'éther. Après décantation, on élimine toute trace de solvant en plongeant le tube dans l'eau chaude.

On ajoute alors V gouttes d'acide sulfurique pur à 5 pour 100 en volume (on utilise pour diviser le précipité un petit agitateur qui servira jusqu'à la fin du dosage), puis III gouttes de sulfate manganeux à 1 pour 100. Après refroidissement, on verse 2 cc. de solution de permanganate de potassium N/150 et on agite. Après 5 minutes de contact, on fait tomber dans le liquide un petit cristal d'iodure de potassium pur. Comme le milieu est acide, le permanganate libère une certaine quantité d'iode, ce qui produit

une coloration jaune. Cet iode est titré par une solution d'hyposulfite de sodium N/200 préparée extemporanément à partir de la solution N/10. On se sert d'une microburette et on va jusqu'à décoloration complète.

On opère de même sur un tube témoin contenant :

acide acétique à 0,5 % 4 cc.

oxalate d'ammonium environ N/10 0,50 cc.

On laisse au repos 30 minutes et on titre comme précédemment.

c) *Calculs.*

Soit :

N le nombre de centimètres cubes d'hyposulfite de sodium N/200 trouvé pour le témoin ;

N' le nombre de centimètres cubes d'hyposulfite de sodium N/200 trouvé pour la solution à doser ;

n le nombre de centimètres cubes de la solution I (4 cc. pour le lait de femme, 1 cc. pour le lait de vache).

Comme 1 cc. de la solution d'hyposulfite N/200 correspond à 0,10 mgr. de calcium, la quantité de calcium en milligrammes contenue dans la prise d'essai est donnée par la formule :

$$(N' - N) \times 0,1 \times 10 \times 10$$

$$4 \times n$$

Nos expériences nous ont donné les résultats qui se trouvent consignés dans les tableaux II et III.

TABLEAU II
LAIT DE FEMME

Origine du lait	Âge du lait	Ca 0/00	P 0/00	Ca — P	Moyennes de Ca — P
N° 1	12 jours	0,262	0,152	1,73	1,59 (12 à 22 jours)
N° 2	21 jours	0,260	0,169	1,53	
N° 3	22 jours	0,230	0,152	1,51	
N° 4	1 mois	0,215	0,169	1,27	1,52 (1 mois)
N° 5	»	0,250	0,162	1,53	
N° 6	»	0,262	0,147	1,78	
N° 7	1 mois 15 j.	0,310	0,128	2,41	2,08 (1 à 2 mois)
N° 8	»	0,280	0,156	1,79	
N° 9	»	0,330	0,143	2,30	
N° 2	1 mois 21 j.	0,286	0,156	1,79	2,22 (2 mois)
N° 10	2 mois	0,377	0,158	2,39	
N° 11	»	0,331	0,124	2,67	
N° 12	»	0,282	0,166	1,60	2,53 (3 mois)
N° 13	3 mois	0,307	0,151	2,03	
N° 14	»	0,326	0,125	2,60	
N° 15	»	0,265	0,178	1,48	2,12 (4 mois)
N° 16	»	0,366	0,131	2,79	
N° 17	»	0,292	0,067	4,35	
N° 18	»	0,302	0,122	2,47	2,29 (5 mois)
N° 13	3 mois 10 j.	0,281	0,139	2,02	
N° 16	4 mois	0,290	0,127	2,28	
N° 19	»	0,268	0,100	2,68	2,13 (6 mois)
N° 20	»	0,243	0,183	1,32	
N° 21	»	0,312	0,132	2,36	
N° 21	4 mois 15 j.	0,300	0,150	2,00	2,29 (5 mois)
N° 16	5 mois	0,317	0,126	2,51	
N° 22	»	0,232	0,132	1,75	
N° 23	»	0,278	0,106	2,62	2,13 (6 mois)
N° 16	6 mois	0,312	0,114	2,73	
N° 23	»	0,255	0,113	2,25	
N° 24	»	0,257	0,133	1,93	1,97
N° 25	»	0,133	0,074	1,80	
N° 25	6 mois 15 j.	0,180	0,091	1,97	
N° 26	7 mois	0,273	0,143	1,90	1,78
N° 27	»	0,247	0,100	2,47	
N° 28	8 mois	0,232	0,146	1,49	
N° 29	14 mois	0,303	0,144	2,10	1,46
N° 30	18 mois	0,242	0,136	1,78	
N° 31		0,272	0,186	1,46	
Moyenne		0,276	0,136	2,03	

TABLEAU III

Origine du lait	Ca 0/00	P 0/00	Ca — P	Moyennes de Ca — P
Vache cru N° 1	1,12	0,90	1,24	1,28 (hiver)
Vache cru N° 2	1,28	1,00	1,28	
Vache cru N° 3	1,36	1,03	1,32	
Vache cru N° 4	1,27	0,925	1,37	1,37 (printemps)
Vache pasteurisé a)	1,33	0,98	1,35	
Vache bouilli b)	1,65	1,26	1,36	
Concentré homogénéisé	2,51	1,82	1,37	1,27
Concentré homogénéisé	2,39	2,03	1,17	
Concentré homogén. « reconstitué »	1,25	0,91	1,37	
Concentré homogén. « reconstitué »	1,18	1,01	1,17	1,10
Concentré sucré	2,54	2,28	1,11	
Concentré sucré	2,90	2,62	1,10	
Concentré sucré « reconstitué »	0,924	0,829	1,11	1,37
Concentré sucré « reconstitué »	1,05	0,953	1,10	
En poudre : Entier	6,81	4,96	1,37	
1/2 écrémé, sucré, maltosé, dextriné	8,03	5,80	1,38	1,38
Entier, acidifié, non sucré	9,87	7,06	1,39	1,39
Vitaminé sec irradié N° 1	3,21	2,33	1,37	1,37
Vitaminé sec irradié N° 2	12,00	8,54	1,40	1,40
Babeurre: gras	1,24	1,00	1,24	1,27
Babeurre: gras	1,22	0,932	1,30	
Babeurre: maigre	0,540	0,422	1,28	
Babeurre: pulvérisé	1,26	0,855	1,48	1,48
Babeurre: pulvérisé « reconstitué »	0,111	0,075	1,48	1,32
Chèvre	1,48	1,12	1,32	
Brebis	2,06	1,50	1,37	

a) Même échantillon que le lait cru N° 3

b) Même échantillon que le lait cru N° 4

Discussion des résultats

1. — LAIT DE FEMME. — La moyenne de la teneur en calcium est de 0,276 gr. pour 1.000 cc.. Pour chaque individu, l'état physiologique joue un grand rôle dans la composition du lait. Pour une même nourrice se trouvant dans des conditions physiologiques identiques, les variations sont peu sensibles. Par contre, des différences considérables peuvent être remarquées entre deux sujets. On peut remarquer, avec Widdows [159], que le taux de calcium varie pendant la lactation.

2. — LAIT DE VACHE.

a) *Lait frais.* — Nous avons obtenu une moyenne de 1,26 gr. pour 1.000, voisine de celles de Duclaux, Corley et Denis, Van Slyke, supérieure à celles de Porcher et Steenbock.

Le lait pasteurisé ne présente pas de différence avec le lait cru. Ceci s'explique parce que la pasteurisation a lieu en vase clos et n'entraîne pas de diminution de volume du lait.

Pour le lait bouilli 15 minutes à l'air libre, nous remarquons une augmentation du taux du calcium consécutive à l'évaporation produite par l'ébullition.

b) *Lait concentré homogénéisé.* — Ce lait « reconstitué » contient un pourcentage de calcium (1,21 gr. pour 1.000 cc.) très voisin de celui du lait de vache frais.

c) *Lait concentré*. — Pour un lait concentré « reconstitué », la teneur moyenne en calcium est de 0,987 gr. pour 1.000 cc., donc très légèrement inférieure à la teneur moyenne en calcium du lait frais.

d) *Lait en poudre*. — Pour un lait sec entier, nous trouvons une quantité de calcium de 6,81 gr. pour 1.000 gr., compte tenu de l'humidité qui se trouvait être de 31 pour 1.000.

Le lait demi-écrémé, sucré, additionné de 15 pour 100 de maltose-dextrine, possède une teneur en eau de 42,9 pour 1.000. Le calcium contenu dans l'échantillon est de 8,03 gr. pour 1.000 gr. de lait sec. Si nous « reconstituons » ce lait, nous obtenons un taux de calcium de 0,89 gr. pour 1.000 gr., taux inférieur à la moyenne du lait frais.

Quant au lait entier, acidifié, non sucré, il contient 33 pour 1.000 d'eau, ce qui ramène sa teneur en calcium à 9,87 gr. pour 1.000 grammes de lait sec.

e) *Lait vitaminé*. — Un premier échantillon examiné renferme 3,21 gr. de calcium pour 1.000 grammes de lait sec. Un deuxième échantillon de lait sec irradié contient 12 grammes de calcium pour 1.000 grammes de lait sec.

f) *Babeurres*. — Leur richesse en calcium est très variable suivant que l'on s'adresse aux babeurres gras, maigres ou pulvérisés.

Les babeurres gras étudiés contiennent une moyenne de 1,23 gr. pour 1.000 cc., alors que les babeurres maigres accusent un chiffre bien inférieur de 0,540 gr. pour 1.000 cc.

Pour les babeurres pulvérisés, la teneur en calcium est de 1,26 gr. pour 1.000 grammes de babeurre sec, compte tenu de l'humidité qui se trouve être de 35 pour 1.000. Ce babeurre « reconstitué » contient 0,111 gr. de calcium pour 1.000 grammes.

3. — LAIT DE CHÈVRE. — Notre chiffre (1,48 gr. pour 1.000 cc.) est voisin de celui d'Abderhalden (1,40 gr. pour 1.000).

LAIT DE BREBIS. — Ici, notre résultat (2,06 gr. pour 1.000 cc.) est supérieur à celui d'Abderhalden.

D'une manière générale, on peut donc dire que sur un même lait on ne note pas de différence sensible ; par contre, les variations individuelles sont parfois très grandes. On remarque une analogie plus marquée entre divers échantillons de laits conservés, concentrés ou homogénéisés. Enfin, l'étude d'échantillons d'origines différentes de laits en poudre ou vitaminés, ou de babeurres, fournit des résultats très dissemblables, ce qui s'explique fort bien par la différence des matières premières mises en œuvre et par la diversité des procédés utilisés pour leur fabrication.

CHAPITRE II

LE PHOSPHORE DANS LES LAITS

Historique

L'étude du rachitisme est intimement liée à celle du phosphore. Les variations du taux du phosphore ont été étudiées dans un grand nombre de cas. Mouriquand et Leulier [97] se sont particulièrement intéressés au métabolisme du phosphore chez le rat soumis à un régime rachitigène. Nous renverrons à la thèse de Cœur [22] pour une bibliographie plus complète.

Les taux de phosphore dans les différents laits ont été donnés la première fois, semble-t-il, par Bunge [16] dès 1874. Un très grand nombre de travaux, dont les résultats se trouvent rassemblés dans le tableau IV, ont été effectués sur ce sujet. Les chiffres oscillent entre 0,109 gr. pour 1.000 (Pagès [105]) et 0,251 gr. pour 1.000 (de Lange [72]).

Schabad [123] (1912), en étudiant le calcium du lait, trouve que, si le lait de mère d'enfant sain contient 0,145 gr. pour 1.000 de phosphore, le lait de mère d'enfant rachitique en renferme 0,160 gr. pour

1.000. D'après ces chiffres, contrairement à ce qui se passe pour le calcium, le taux de phosphore serait plus élevé dans les cas de rachitisme. Telfer [144] reprend ces recherches, et, comme pour le calcium, il conclut à une identité absolue des deux laits, puisqu'il donne les chiffres de 0,174 gr. pour 1.000 dans le cas d'enfants sains, et de 0 170 gr. pour 1.000 dans le cas d'enfants rachitiques.

Quant aux variations du taux de phosphore suivant la durée de la lactation, elles se produisent comme pour le calcium, mais elles sont moins marquées. Schlossmann [127] (1905) peut établir le rapport entre le pourcentage de phosphore et la durée de la lactation. Ses chiffres tendent à montrer que ce pourcentage diminue avec la durée de la lactation. Schloss [125] (1911) dit qu'il y a augmentation graduelle de la première semaine au troisième mois, puis diminution suivie d'une nouvelle augmentation, et enfin diminution progressive jusqu'au onzième mois. D'après les résultats donnés par Telfer [144], la moyenne élevée des deux premières semaines passe par un minimum entre la troisième et la quatrième semaine, atteint un maximum entre le cinquième et le sixième mois et décroît progressivement. Pour Widdows l'accroissement débute à la première semaine, le maximum est atteint entre le troisième et le quatrième mois, puis le chiffre subit une très légère diminution jusqu'au dixième mois.

TABLEAU IV
P 0/00

[illegible]

Contrairement à ce qu'il démontre pour le calcium, Telfer [144] établit que le lait des femmes des campagnes (0,192 gr. pour 1.000) est plus riche en phosphore que celui des femmes des villes (0,174 gr. pour 1.000).

Pour le lait de vache, les chiffres oscillent entre 0,65 gr. pour 1.000 (Clark [21]) et 1,25 gr. pour 1.000 (Van Slyke [147]). Les conclusions sont identiques à celles obtenues par l'étude du calcium. Bordas et Raczkowski [13] (1902) affirment que le taux du phosphore va en décroissant depuis l'époque du vêlage. Hart et Steenbock [48] (1930) constatent que la levure irradiée n'a aucune influence sur le métabolisme du phosphore chez la vache laitière. Comme elle le fait pour le calcium, Mme Desoille [28] établit que la chaleur ne modifie pas la teneur en phosphore du lait de vache.

Enfin, en ce qui concerne le prélèvement (début ou fin de la tétée), on a vu avec Myers [99] qu'il n'influe pas sur le contenu minéral du lait.

Travaux personnels

Nous allons rappeler brièvement les différents modes de prélèvement ainsi que les prises d'essai que nous avons effectuées, puis nous exposerons les différentes méthodes de minéralisation, la méthode de dosage que nous avons utilisée et les résultats que nous avons obtenus.

1° PRÉLÈVEMENTS

Pour les différentes sortes de lait, les prélèvements ont été effectués comme pour le calcium, en utilisant toujours pour recueillir les laits liquides des bouteilles de verre blanc, propres, sèches et sans odeur, et, pour les autres laits, des boîtes en parfait état de conservation.

2° PRISES D'ESSAI

Elles sont exactement les mêmes pour le phosphore que pour le calcium. C'est sur une même prise d'essai de 5 cc. pour le lait de femme, de 1 cc. pour les laits de vache, de chèvre et de brebis et pour les babeurres, de 1 gr. pour les laits concentrés et les laits en poudre, que nous avons effectué les dosages de calcium et de phosphore.

3° MÉTHODES DE MINÉRALISATION

On a reproché à certaines méthodes de minéralisation d'amener des erreurs par défaut dans le dosage du phosphore. Baumann [6] signale que la minéralisation par fusion ou par le mélange sulfonitrique occasionne des pertes par volatilisation du phosphore et par transformation de l'acide orthophosphorique en acide méta ou pyrophosphorique : ces pertes s'élèveraient jusqu'à 14 pour 100. De plus, comme nous l'avons dit pour le calcium, nous avons constaté que cette méthode détruit incomplètement les globules graisseux du lait.

Nous avons choisi la méthode par calcination. Si,

dans certains cas, ce procédé amène des pertes par volatilisation du phosphore, il se révèle excellent pour l'étude du lait, ainsi que l'a montré Leulier [78].

La prise d'essai définie précédemment est donc évaporée à sec au bain-marie, prudemment, dans une large capsule de platine, puis calcinée jusqu'à cendres blanches. Comme cela a été dit pour le dosage du calcium, les cendres sont reprises par une solution d'acide chlorhydrique à 5 pour 100 avec laquelle on complète à 10 cc. dans un ballon jaugé. Ceci constitue la solution I qui sert à la fois pour le dosage du calcium, ainsi que nous l'avons vu, et pour le dosage du phosphore, ainsi que nous allons le voir.

4° MÉTHODES DE DOSAGE

Nous exposerons brièvement les procédés de dosage du phosphore qui peuvent s'appliquer au lait : on distingue des méthodes pondérales, volumétriques, coryzimétriques et colorimétriques.

Parmi les méthodes pondérales, nous citerons celle de Posternak [111] qui, après avoir précipité le phosphore à l'état de phosphomolybdate d'ammonium, le redissout dans l'ammoniaque et le précipite à l'aide de chlorure d'ammonium sous forme de phosphomolybdate d'ammonium. Ce précipité est calciné et pesé. Cette méthode, comme toutes les méthodes pondérales, nécessite un temps très long.

Des procédés de dosage volumétrique, celui de Neumann [100] est très fréquemment utilisé. Il consiste à dissoudre dans l'ammoniaque le précipité de phosphomolybdate. On ajoute à la liqueur chaude une

solution titrée de soude en excès. L'ammoniaque est chassée par la soude dont on titre l'excès. C'est de cette méthode que s'est inspiré Machebœuf [87]. D'après Leulier [78], la technique de Neumann donne de bons résultats, pourvu que le taux de phosphore ne soit pas trop faible. Leulier a modifié cette méthode : au lieu de distiller et d'éliminer l'ammoniaque, il la dose par formoltitration. Javillier et Djélatidès [57] opèrent toujours la précipitation initiale et font une solution ammoniacale, puis ils acidifient la solution et réduisent l'acide molybdique, puis ils titrent en réoxydant le molybdène par le permanganate de potassium.

La méthode coryzimétrique de Copaux [23] engage le phosphore dans un complexe liquide phospho-éthéro-molybdique non miscible à l'eau-mère. Du volume de ce complexe, on déduit la quantité de phosphore contenue dans la prise d'essai. Ce procédé, appliqué au lait par Kling et Lassieur [66], nécessite une ampoule spéciale.

Nous avons utilisé la méthode colorimétrique de Bell et Doisy [7], modifiée par Briggs [14], puis par Martland et Robison [89]. Le principe en est le suivant : l'acide phosphorique transformé en acide phosphomolybdique, donne, après réduction par l'hydroquinone, une coloration bleue qui s'intensifie par alcalinisation. A la teinte bleue se surajoute une teinte bleu verdâtre que l'on élimine grâce au sulfite de sodium. On compare la coloration à celle obtenue dans les mêmes conditions à partir d'une solution titrée de phosphate monopotassique. Cette coloration

n'est pas assez stable, dit Briggs, qui opère avec une solution aqueuse d'hydroquinone et une solution aqueuse de sulfite de sodium. Il compare après 30 minutes. Fiske et Subarrow [35] objectent que le temps de réduction est trop long et que l'hydroquinone est un réducteur insuffisant : ils le remplacent par l'acide amino-1-2-4-naphtolsulfonique avec lequel on obtient une teinte colorimétrable en 5 à 10 minutes. Martland et Robison [89] (1924) trouvent que l'intensité de coloration varie avec l'acidité du milieu. Pour éviter les erreurs, ils recommandent d'ajouter au témoin une quantité d'acide sulfurique égale à celle qui se trouve dans la liqueur à doser.

Nous qui n'avons pas utilisé la méthode de minéralisation nitrosulfurique, nous ajoutons un volume égal de solution d'acide sulfurique dans le tube témoin et dans le tube sujet.

5° MÉTHODE DE MARTLAND ET ROBISON

a) *Réactifs nécessaires.*

— Solution d'acide sulfurique à 30 %.

— Solution avec :

molybdate d'ammonium ..	10 gr.
eau distillée	q.s.p. 100 cc.
à renouveler tous les mois.	

— Solution avec :

hydroquinone	0,5 cc.
sulfite de sodium	20 gr.
eau distillée	q.s.p. 100 cc.
à renouveler tous les mois.	

— Solution mère de phosphore avec :

phosphate monopotassique crist. pur et sec 1,098 gr.
eau distillée q.s.p. 500 cc.
1 cc.=0,5 mgr. de P.

— Solution étalon de phosphore :

solution mère de phosphore 2 cc.
eau distillée q.s.p. 100 cc.
1 cc.=0,1 mgr. de P.

Les auteurs signalent que les solutions de molybdate d'ammonium et d'hydroquinone déposent à la longue et qu'elles doivent être renouvelées à ce moment. C'est pour éviter des erreurs possibles dues à une altération, que nous les avons renouvelées tous les mois. Bell et Doisy ont pu conserver la solution en y ajoutant quelques gouttes de chloroforme.

b) *Mode opératoire.*

Après avoir obtenu la solution I comme nous l'avons vu, on en prélève une partie aliquote renfermant environ 0,1 mgr. de phosphore. On évapore à siccité au bain-marie et on reprend le résidu à chaud par 1 cc. d'acide sulfurique à 30 pour 100. On mesure successivement dans des tubes jaugés de 15 cc.

— *Témoin :*

solution étalon de phosphore 10 cc.
 SO_4H^2 à 30 % 1 cc.
solution de molybdate de NH_4 1 cc.
solution hydroquinone-sulfite 1 cc.
eau distillée q.s.p. 15 cc.

Solution à doser :

liqueur à doser : soit le résidu d'évaporation repris par 1 cc. SO^4H^2 à 30 %.

solution de molybdate de NH^4 1 cc.

solution hydroquinone-sulfite 1 cc.

eau distillée q.s.p. 15 cc.

On laisse en contact 30 minutes et l'on compare au colorimètre. Le même témoin peut servir pour plusieurs prises d'essai.

Soit :

T le chiffre lu pour le témoin ;

O le chiffre lu pour la solution à doser ;

n le volume de solution I employé ;

N le volume total de solution I ;

P le poids ou le volume de la prise d'essai.

On a :

P en milligrammes pour 1.000 de lait :

$$0,1 \times T \times N \times 1,000$$

$$O \times n \times P$$

Cette méthode est rapide et permet de mener plusieurs dosages de front. Elle offre une sensibilité suffisante (limite d'erreur : $\pm 0,5$ %) pour le travail que nous devons effectuer.

Les résultats que nous avons obtenus en analysant le phosphore des divers laits se trouvent rassemblés dans les tableaux II et III.

Discussion des résultats

1. — LAIT DE FEMME. — La moyenne de la teneur en phosphore des 31 échantillons observés est de 0,136 gr. pour 1.000. Nous remarquons deux laits particulièrement pauvres (0,067 gr. et 0,074 gr. pour 1.000). Le premier accuse seulement une diminution du phosphore, tandis que le deuxième montre un abaissement parallèle du taux de calcium et de phosphore. Comme nous l'avons vu pour le calcium, nous pouvons dire avec Widdows [159] que le lait devient moins riche en phosphore à mesure que la lactation se prolonge. Le N° 16, en particulier, montre une baisse progressive du phosphore entre trois et six mois. Il est à remarquer que les variations individuelles sont très larges et que seuls les résultats donnés par le lait d'un même individu sont intéressants. Il nous paraît aventureux d'établir, comme le font Telfer et Widdows, une règle des variations au cours de la lactation en s'adressant à des nourrices différentes. Pour que ces observations aient toute leur valeur, il faudrait analyser le lait d'une même mère depuis les premiers jours jusqu'au sevrage.

2. — LAIT DE VACHE.

a) *Lait frais*. — Notre moyenne, qui est de 0,963 gr. pour 1.000 cc., est très voisine de celle de Lenstrup.

Le lait pasteurisé a une richesse égale à celle du lait cru ; par contre, nous notons une légère augmentation de 3 pour 100 environ, pour le lait bouilli :

ceci, nous l'avons vu pour le calcium, est normal par suite de la concentration du lait lors de l'ébullition.

b) *Lait concentré homogénéisé.* — Ce lait accuse un taux de 1,93 gr. pour 1.000 cc., très proche du chiffre donné par Laval. Ce même lait « reconstitué » contient 0,96 gr. pour 1.000 cc. de phosphore. Donc, ainsi que nous l'avons vu pour le calcium, ce lait « reconstitué » renferme autant de phosphore que le lait de vache frais.

c) *Lait concentré sucré.* — La moyenne effectuée sur ces laits est de 2,45 gr. pour 1.000 grammes, donc inférieure à celle donnée par Leprince et Lecoq (3,03 pour 1.000). Ces laits « reconstitués » contiennent 0,891 gr. de phosphore, chiffre inférieur à la normale du lait de vache frais.

d) *Laits en poudre.* — Les résultats sont moins constants, suivant qu'il s'agit de lait sec entier (4,96 gr. pour 1.000 gr.), de lait demi-écrémé, sucré, additionné de 15 pour 100 de maltose-dextrine (5,80 gr. pour 1.000 gr.) ou de lait entier acidifié, non sucré (7,06 gr. pour 1.000 gr.).

e) *Lait vitaminé.* — Dans ce cas, les différences sont encore plus accusées. Un premier échantillon contient 2,33 gr. pour 1.000 gr. de phosphore ; un autre échantillon de lait sec irradié en renferme 8,54 gr. pour 1.000 gr.

f) *Babeurres.* — Ce sont les babeurres gras qui sont les plus riches. Leur teneur en phosphore (0,966 gr. pour 1.000 cc.) est nettement supérieure à celle des babeurres maigres (0,422 gr. pour 1.000 cc.) et à celle

des babeurres pulvérisés « reconstitués » (0,075 gr. pour 1.000 cc.).

3. — LAITS DE CHÈVRE ET DE BREBIS. — Le lait de chèvre se montre plus riche en phosphore que le lait de vache. Le chiffre trouvé par nous (1,12 gr. pour 1.000 cc.) se situe entre ceux de Schlossmann (0,958 gr. pour 1.000 cc.) et ceux d'Abderhalden (1,27 gr. pour 1.000 cc.) et de Bunge (1,24 gr. pour 1.000 cc.).

Quant au lait de brebis, notre résultat (1,50 gr. pour 1.000 cc.) est voisin de celui d'Abderhalden (1,32 gr. pour 1.000 cc.). Nous remarquons que le lait de brebis est beaucoup plus riche en phosphore, comme en calcium, que le lait de chèvre et de vache.

De l'étude du phosphore du lait, nous pouvons conclure, comme pour le calcium, à l'impossibilité de comparer deux laits frais d'origines différentes dont les teneurs en phosphore sont très variables. D'autre part, nous remarquons la très grande richesse du lait de brebis en phosphore.

CHAPITRE III

LE RAPPORT CALCIUM-PHOSPHORE DANS LES LAITS

Historique

En 1872, Wegner [157] étudie déjà l'influence des variations du calcium et du phosphore sur la formation des os chez certains animaux (lapin, chien, chat, coq, etc.). Il observe qu'en abaissant la dose de phosphore et en augmentant celle de calcium, on obtient des lésions histologiques semblables à celles du rachitisme. Weiske et Wildt [158] (1873) poursuivent ces études sur le veau, mais ils ne notent aucun changement. Forster [37] (1876) reprend ces expériences : il rapporte qu'un régime pauvre en calcium, mais normal quant aux autres éléments, provoque chez le chien des lésions rachitiques. Baginsky [4] (1882) confirme ces données en utilisant aussi un rapport pauvre en calcium. Kassowitz [61] (1884) obtient le même résultat avec un rapport riche en phosphore. Schabad [123] (1912) revient au régime pauvre en calcium.

Il faut attendre Mac Collum, Shipley, Simmonds et

Park [83] (1921) pour voir apparaître la notion de rapport calcium-phosphore dans le régime. Pour ces auteurs, le rapport dans un régime rachitigène doit être supérieur à 1,5. Shohl [134] précise que, pour produire le rachitisme expérimental, un rapport calcium-phosphore élevé est nécessaire à condition que la concentration en phosphore ne descende pas au-dessous d'un minimum (0,5 %). Cependant, fait-il remarquer, il peut y avoir rachitisme avec des rapports normaux compris entre 1 et 2, si l'on diminue la dose de phosphore.

Les régimes rachitigènes utilisés dans les recherches actuelles possèdent un rapport calcium-phosphore élevé et généralement supérieur à 4. Tels sont les régimes 85 de Sherman et Pappenheimer [132], les divers régimes de Mac Collum [83], Osborne et Mendel [102], Steenbock et Black [138] et celui de Mme Randoïn et Lecoq [113]. Le régime 85 de Sherman et Pappenheimer est celui que Mouriquand, Leulier et leurs élèves [96] ont utilisé au cours de leurs nombreux travaux sur le rachitisme expérimental (étude des fixateurs et antifixateurs du calcium).

De ces considérations, il résulte que la valeur absolue et la valeur relative du calcium et du phosphore dans le régime ont une importance.

TABLEAU V

AUTEURS	Fem- me	Vache	Anes- se	Ca		P		Truie	Chien- ne	Ju- ment	Rate	Lapine	Cha- melle	Re- narde
				Chèvre	Brebis									
Aberbalden.....	1,19	1,32	—	1,12	1,38	—	—	1,34	1,50	1,48	—	1,46	—	—
Bunge.....	—	1,32	—	—	—	—	—	—	1,50	1,47	—	—	—	—
Clark.....	—	1,94	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Cox et Mueller (a).....	2,26	1,35	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Delaux.....	—	1,32	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fleischmann.....	—	0,93	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hart et Steenbock.....	—	1,20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Lambling.....	1,14	1,32	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mouriquand et Leulier.....	1,20	1,35	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Outhouse.....	2,14	1,03	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pagès.....	1,31	1,47	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Porcher.....	1,54	1,25	2,04	1,52	1,32	—	—	—	1,50	1,25	—	—	1,85	—
Schabad.....	1,89	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sherman.....	—	1,27	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Teller.....	1,86	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Van Slyke.....	—	1,19	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Widdows (a).....	2,11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Young.....	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,36

(a) Chiffre donné par l'auteur. Les autres chiffres ont été calculés

Des études que nous avons faites, il ressort que le lait de femme contient 0,276 gr. pour 1.000 cc. de calcium et 0,136 gr. pour 1.000 cc. de phosphore, alors que le lait de vache, quatre à six fois plus riche, renferme 1,26 gr. de calcium et 0,963 gr. de phosphore. Si la quantité absolue des deux sels jouait seule, c'est le lait de femme qui devrait favoriser l'action des facteurs rachitigènes. Il n'en est rien et l'on doit recourir à l'observation du rapport calcium-phosphore pour juger du pouvoir antirachitique des laits.

Widdows [159] (1930) étudie les variations du rapport calcium-phosphore suivant les périodes de la lactation chez la femme. Cet auteur observe pendant les deux premières semaines un chiffre moyen de 2,20 qui s'abaisse à 2,18 au cours du premier mois, remonte à 2,30 vers le troisième ou le quatrième mois et se stabilise autour de 2,02 entre le cinquième et le sixième mois. Cox et Mueller [25] (1937) comparent les rapports calcium-phosphore des laits de femme (qui accusent un chiffre plus élevé : 2,26), de vache (1,35) et de rat (1,28). Mouriquand et Leulier [95] (1934) trouvent pour le lait de femme un rapport calculé de 1,20, très voisin de celui du lait de vache (1,35).

Dans le tableau V, nous avons consigné ces différents résultats et ceux que nous avons trouvés en effectuant le rapport entre les chiffres de calcium et de phosphore donnés par quelques auteurs.

Tous ces résultats diffèrent. C'est pourquoi, sur les conseils de MM. Mouriquand et Leulier, nous avons repris l'étude du rapport calcium-phosphore dans le

lait de femme, dans les différents laits de vache ordinaires ou modifiés, dans le lait de chèvre et de brebis. Nous avons rassemblé nos chiffres dans les tableaux II et III.

Ce rapport a été calculé d'après les résultats des dosages de calcium et de phosphore effectués, comme nous l'avons vu, sur la même prise d'essai.

Discussion des résultats

1. — LAIT DE FEMME. — La moyenne de nos résultats nous donne un rapport de 2,03, voisin de celui de Widdows, compris entre les chiffres de Telfer (1,86) et de Cox et Mueller (2,26).

Ce rapport semble bien être toujours plus faible pendant le premier mois.

2. — LAIT DE VACHE.

a) *Lait frais*. — Le quotient calcium-phosphore du lait de vache est inférieur à celui du lait de femme. Le rapport du lait de printemps (1,37) est supérieur à celui du lait d'hiver (1,28).

Le lait pasteurisé présente un rapport identique à celui du lait frais, puisque la pasteurisation ne modifie pas sensiblement la teneur du lait en calcium et en phosphore.

Pour le lait bouilli, le rapport est analogue à celui du lait frais. En effet, l'ébullition provoque une augmentation égale du taux de calcium et de phosphore.

b) *Lait concentré homogénéisé.* — Le quotient calcium-phosphore est de 1,27, donc sensiblement égal à celui du lait de vache.

c) *Lait concentré.* — Quant aux laits concentrés sucrés « reconstitués », ils présentent un rapport de 1,10, bien inférieur à celui du lait de vache frais.

d) *Laits en poudre.* — Pour les différentes sortes de laits en poudre que nous avons étudiés, les rapports sont identiques, bien que les taux de calcium et de phosphore de ces divers échantillons soient très dissemblables. Nous notons, en effet, les chiffres de 1,37 pour le lait sec entier, de 1,38 pour le lait demi-écrémé, sucré, additionné de 15 pour 100 de maltose-dextrine, 1,39 pour le lait entier acidifié non sucré.

e) *Lait vitaminé.* — Les chiffres de calcium et de phosphore qui, nous l'avons vu, sont si différents, nous donnent deux rapports très voisins de 1,37 pour le premier échantillon, de 1,40 pour le deuxième échantillon de lait sec irradié.

f) *Babeurres.* — Pour les babeurres, les différences sont légèrement plus accusées. Si le rapport est de 1,27 pour les babeurres gras, de 1,28 pour les babeurres maigres, il se montre de 1,48 pour les babeurres pulvérisés.

3. — LAITS DE CHÈVRE ET DE BREBIS. — Le lait de brebis, également plus riche en calcium que le lait de chèvre, possède un quotient calcium-phosphore (1,36) très peu différent de celui du lait de chèvre (1,32). Nous remarquons que ces chiffres sont très proches de la moyenne du lait de vache.

Deux faits très intéressants ressortent donc de l'étude du rapport calcium-phosphore dans les laits. C'est que le lait de femme possède un quotient supérieur à 2, et tout à fait différent des quotients observés dans les laits des autres mammifères. C'est aussi que les laits de vache frais ou conservés, les laits de chèvre et de brebis ont des rapports assez voisins les uns des autres. Ces rapports oscillent entre 1,11 et 1,40.

CHAPITRE IV

COMPARAISON ENTRE LES PROPRIETES ANTIRACHITQUES DES LAITS

Si, après avoir examiné les conditions d'obtention du rachitisme expérimental, on considère successivement la valeur absolue du calcium et du phosphore dans les différents laits, puis le rapport qui les lie, on peut croire que le lait de vache est moins rachitigène que le lait de femme. On a vu, en effet, que le rapport calcium-phosphore du lait de femme est supérieur à 2 et que la quantité absolue du calcium et du phosphore est plus faible dans le lait de femme que dans le lait de vache. Cependant, l'expérience clinique montre que le lait de femme est mieux assimilé que le lait de vache par le nourrisson humain. On peut donc se demander si le lait de femme n'a pas une teneur plus élevée en substance antirachitique.

Il est par suite nécessaire d'examiner et de comparer la valeur antirachitique des laits de vache et de femme. Pour cela, nous étudierons dans le lait de vache la richesse en vitamine D, les variations du

pouvoir antirachitique du lait frais suivant la saison, suivant l'état du lait (lait frais ou conservé) ; nous comparerons le pouvoir antirachitique du lait à celui d'autres substances. Nous examinerons enfin les différents moyens que l'on peut utiliser pour accroître la valeur antirachitique du lait de vache.

Crawford, Golding, Perry et Silva [26] étudient, en 1930, la localisation des vitamines dans le lait. Ces auteurs reprennent les expériences effectuées en 1917 par Mac Collum, Simmonds et Steenbock [85] qui prétendaient que le lait écrémé peut contribuer à la croissance de l'animal et qu'il peut même prévenir le rachitisme. Mais, objectent Crawford et ses collaborateurs, si une telle chose a été constatée, c'est que le lait utilisé par Mac Collum n'était pas complètement écrémé et contenait encore des vitamines solubles dans les graisses, ou bien c'est que le lait renferme des vitamines solubles dans l'eau. Crawford soumet à une concentration suffisante, sous pression réduite et à basse température, un échantillon de lait provenant de vaches bien nourries. Il isole la crème par barattage et il évapore à siccité le petit-lait. Il administre le beurre et le petit-lait sous forme de deux régimes à deux lots différents de rats et il compare l'évolution de la courbe de poids dans les deux cas. Ceci lui permet de conclure, à l'inverse de Mac Collum, que la totalité des vitamines A et D du lait est contenue dans le beurre. Haman [46] confirme, en 1935, que la vitamine D est entièrement contenue dans le beurre ; le petit-lait est inactif.

Le pouvoir antirachitique du lait est susceptible de

se modifier sous l'action de divers facteurs, notamment le soleil. Les auteurs admettent avec Chick [20] et Supplee [143] que le lait d'été est toujours plus actif que le lait d'hiver. Pour Champion [19], le lait d'été serait une véritable source de vitamine D. Ceci est dû à l'influence des rayons solaires sur l'animal. Dans le même ordre d'idées, Freibell et Hildesheim [38], puis Boas et Chick [11] montrent que le lait de vaches au pâturage est riche en vitamines, mais que le lait de vaches nourries au fourrage est pauvre.

On a aussi voulu comparer l'activité du lait concentré à celle du lait frais. Rice [116], en 1930, admet que le lait concentré conserve un pouvoir antirachitique égal à celui du lait brut. Cette opinion n'a pas prévalu et les auteurs s'accordent pour déclarer que les manipulations et le chauffage subis par le lait concentré le dépouillent de toute action antirachitique. En 1927, Honeywell, Dutcher et Dahle [55] notaient déjà une diminution très sensible de la quantité de vitamine D dans les laits concentrés. En poursuivant le même but, Honeywell et Dahle [54], en 1930, démontrent que le lait cru est beaucoup plus actif que les laits conservés qui se trouvent privés de vitamine D par suite de l'évaporation, de l'action du vide, de la pulvérisation ou de la stérilisation.

Toutes ces données prouvent l'existence d'un facteur antirachitique dans le lait de vache. On a voulu essayer d'exprimer sa valeur. Les méthodes de dosage sont basées sur la comparaison entre le pouvoir antirachitique du lait de vache et celui d'un étalon

variable, le plus souvent ergostérol irradié ou huile de foie de morue. On a dit [114] que les meilleurs échantillons de lait de vache ont une valeur antirachitique cinq cents fois moindre que celle d'un échantillon moyen d'huile de foie de morue. Jephcott et Bacharach [59] estiment que 0.280 l. de lait ont un pouvoir antirachitique égal à celui de XXX gouttes d'huile de foie de morue.

Cette activité antirachitique du lait de vache est, on le voit, assez faible pour qu'on ait tenté de l'accroître. Les moyens utilisés portent soit sur l'animal, soit sur le lait lui-même.

On a, en effet, pu soumettre la vache laitière à l'action des rayons solaires. Luce [81], puis Chick et Roscoe [20] concluent que l'activité antirachitique du lait dépend du régime et du degré d'insolation de l'animal. Nous avons vu, avec Freibell [38] et Boas [11] que le lait des vaches au pâturage a un pouvoir antirachitique plus grand que le lait des vaches à l'étable. Mais, disent Falkenheim [33] et Völtz [153], la lumière solaire ne produit pas d'effets définitifs ; par contre, le lait donné par une vache irradiée prévient et guérit même le rachitisme.

C'est pourquoi on a songé à soumettre la vache à l'influence des radiations d'une lampe de quartz à vapeurs de mercure. Steenbock [139] montre que les propriétés antirachitiques du lait de vache peuvent ainsi être augmentées huit fois et celles du lait de chèvre vingt-quatre fois. De nombreux chercheurs s'associèrent à cette idée, parmi lesquels Gowan [43], Dutcher et Honeywell [30], Hess, Weinstock et

Sherman [51], Bruck-Biesok, Pirquet et Wagner [15].

On a aussi eu l'idée d'administrer aux vaches de la vitamine D sous forme de levure de bière irradiée. On a ainsi obtenu le « lait de levure ». Ceci résulte des observations de Watchell [156] qui prouvent que, si l'on ajoute de la levure irradiée à la nourriture des vaches, leur lait devient plus riche en vitamine D. La vitamine D passerait directement dans le lait sans subir de modifications.

Enfin, on a tenté d'enrichir en vitamine D le lait lui-même sans intermédiaire. On l'a additionné d'extraits d'huile de foie de morue ou de solutions concentrées d'ergostérol irradié. On a aussi soumis le lait à l'action des U.V.. Le lait ainsi obtenu, ou « lait irradié », contient un nombre d'unités de vitamine D bien défini.

Il est désormais utile de comparer l'activité antirachitique de tous ces laits. On distingue pour cette étude les laits à vitamine d'origine animale (huile de foie de morue) et d'origine végétale (ergostérol irradié), le « lait irradié » et le « lait de levure ».

Waddell [155] avait dit en 1934 que le lait irradié, l'huile de foie de morue et l'ergostérol irradié possédaient une activité antirachitique égale sur les poulets. Kramer, Wyman et Gerstenberger [68], en 1935, avaient aussi montré que s'il existe quelque différence entre les divers types de vitamine D, cette différence était trop faible pour avoir une signification pratique. De même, Bethke, Record et Wilder [8], en 1935, concluent que le calciférol ou vitamine D cristallisée, la levure irradiée et le « lait irradié »

ont le même pouvoir sur les poulets. Tous ces auteurs sont en contradiction avec l'opinion générale qui prouve, ainsi que le résumant Mouriquand et Leulier [93], que l'ergostérol irradié est bien moins actif que l'huile de foie de morue chez le poulet. Jeans [58], en 1936, conclut de même que les vitamines d'origine végétale ont une activité moins grande que les vitamines d'origine animale.

Il est à noter, cependant, que ce fait ne se retrouve pas dans la clinique et que Eliot [32] n'a pu, chez les enfants, déceler de différence entre l'ergostérol irradié et l'huile de foie de morue.

Il reste à voir s'il existe une différence d'activité entre le « lait irradié » et le « lait de levure ». Bethke, Record et Wilder [8], en 1935, puis Haman [46], en 1936, s'accordent pour affirmer que le « lait irradié » est dix fois plus actif que le « lait de levure ».

Après cette étude de la valeur antirachitique du lait de vache, il est nécessaire d'établir une comparaison avec le lait de femme.

En 1924, Lesné et Vagliano [77] constatent, suivant l'expérience clinique, que les nourrissons élevés au sein sont presque tous indemnes de rachitisme ; par contre, c'est parmi les enfants soumis à l'allaitement artificiel que se trouvent la plupart des cas de rachitisme. Pourtant, disent ces auteurs après avoir effectué leurs expériences sur de jeunes rats soumis au régime 85 de Pappenheimer, ce n'est pas en administrant du lait de femme qu'on peut empêcher chez ces rats le développement du rachitisme. Et l'on assiste à ce fait curieux : le lait de femme est anti-

rachitique pour le nourrisson, mais, à doses normales, il ne peut guérir ni même prévenir le rachitisme expérimental.

Kennedy et Palmer [63], en 1925, aboutissent à une conclusion un peu différente. Pour eux, une certaine dose de lait de femme est nécessaire pour produire la ligne témoin de recalcification chez les rats soumis au régime rachitigène de Mac Collum. Hess et Weinstock [50], en 1927, disent aussi que pour protéger du rachitisme expérimental, 25 à 30 cc. de lait de femme doivent être ajoutés à la ration de base, alors que 20 à 25 cc. de lait de vache sont suffisants pour produire les mêmes résultats. Hess, Weinstock et Sherman [51], à la suite de travaux effectués la même année, établissent qu'une dose quotidienne de 25 cc. de lait de femme ne suffit pas pour guérir du rachitisme des rats soumis au régime de Sherman-Pappenheimer. Pour Outhouse, Macy et Brekke [103], le lait humain administré à la dose journalière de 25, 30 ou 40 cc. n'a aucune action antirachitique ; par contre, 30 cc. de lait de vache ingérés pendant sept jours de suite, provoquent une guérison des lésions rachitiques chez le rat. Ces considérations résultent d'expériences que ces auteurs ont pratiquées sur deux lots de jeunes rats soumis depuis 21 jours au régime rachitigène d'Osborne et Mendel [102]. Après ce temps, on administre aux rats, pendant sept jours, des doses croissantes de lait de femme de 25, 30, 35 et même 40 cc.. L'autopsie montre qu'il n'y a pas de guérison du rachitisme. Au contraire, si, pendant sept jours, on fait ingérer à des rats soumis depuis qua-

torze jours au régime rachitigène d'Osborne et Mendel, une dose journalière de 30 cc. de lait de vache, les lésions rachitiques sont définitivement guéries.

Hess, Weinstock et Sherman [51] ont essayé d'amplifier les propriétés antirachitiques du lait de femme. Ils rapportent qu'on peut agir favorablement sur le rachitisme en administrant quotidiennement à des rats 25 cc. de lait provenant d'une nourrice soumise à l'action des rayons U.V.. Gerstenberger, Hartman et Smith [41] affirment de même que le lait de femme acquiert des qualités antirachitiques par irradiation de la nourrice.

Toutes ces considérations nous permettent de conclure que, si le lait de femme ne permet pas le développement du rachitisme humain, il est peu efficace sur le rachitisme expérimental. Par contre, le lait de vache qui est susceptible de favoriser chez l'enfant l'apparition du rachitisme, guérit les lésions produites par les régimes propres au rachitisme expérimental.

On aboutit, en fin de ce chapitre, à une sorte d'énigme biologique que la chimie paraît incapable de résoudre, du moins en ce qui concerne le rachitisme de l'enfant.

On sait que la masse minérale osseuse est surtout formée de phosphate tricalcique. On sait aussi que la fixation du métal est fonction de celle de l'acide phosphorique. Or, le lait de femme, relativement pauvre en phosphore, en calcium, en vitamine D, permet à l'enfant de construire un édifice osseux normal. Par contre, le lait de vache plus riche en cal-

cium, en phosphore, en vitamine D, n'assure pas toujours à un nourrisson humain une croissance osseuse normale. Et l'on ne peut invoquer ici une dysharmonie chimique des éléments qui se présentent à l'assimilation par l'organisme. Bien au contraire, puisque le rapport calcium-phosphore du lait de vache se rapproche le plus de celui des formes assimilables des phosphates calciques, soit celle du phosphate monocalcique.

Nous sommes donc très éloignés de ce qui se passe dans le rachitisme expérimental qui est sous la dépendance rigoureuse du régime alimentaire lui-même, et où la proportion de calcium est telle par rapport au phosphore qu'elle doit aboutir à la formation de phosphates inassimilables (phosphate tricalcique).

Le rachitisme expérimental trouve assez facilement une explication chimique rationnelle ; le rachitisme de l'enfant nourri au biberon ne peut être expliqué que par la clinique, et la première explication qu'elle donne c'est que le lait maternel est rigoureusement adapté au rythme de croissance du nourrisson.

CONCLUSIONS GENERALES

Nous avons procédé, dans différents laits, à des dosages de calcium et de phosphore qui nous ont conduit aux résultats suivants :

I. — *Lait de femme*. — Calcium : 0,276 gr. pour 1.000 cc. — Phosphore : 0,136 gr. pour 1.000 cc. — Ca/P : 2,03.

On enregistre de grandes variations individuelles.

II. — *Lait de vache frais*. — Calcium : 1,26 gr. pour 1.000 cc. — Phosphore : 0,963 gr. pour 1.000 cc. — Ca/P : 1,30.

La pasteurisation ne modifie pas ces chiffres. L'ébullition augmente les taux de calcium et de phosphore mais ne modifie pas leur rapport.

III. — *Lait concentré homogénéisé « reconstitué »*. — Calcium : 1,21 gr. pour 1.000 cc. — Phosphore : 0,96 gr. pour 1.000 cc. — Ca/P : 1,26.

IV. — *Lait concentré sucré « reconstitué »*. — Calcium : 0,987 gr. pour 1.000 cc. — Phosphore : 0,891 gr. pour 1.000 cc. — Ca/P : 1,10.

V. — *Laits en poudre :*

a) *Lait sec entier.* — Calcium : 6,81 gr. pour 1.000 gr. — Phosphore : 4,96 gr. pour 1.000 gr. — Ca/P : 1,37.

b) *Lait demi-écrémé, sucré, additionné de 15 % de maltose-dextrine.* — Calcium : 8,03 gr. pour 1.000 gr. — Phosphore : 5,80 gr. pour 1.000 gr. — Ca/P : 1,38.

c) *Lait entier acidifié, non sucré.* — Calcium : 9,87 gr. pour 1.000 gr. — Phosphore : 7,06 gr. pour 1.000 gr. — Ca/P : 1,39.

VI. — *Lait vitaminé :*

a) Calcium : 3,21 gr. pour 1.000 gr. — Phosphore : 2,33 gr. pour 1.000 gr. — Ca/P : 1,37.

b) Calcium : 12 gr. pour 1.000 gr. — Phosphore : 8,54 gr. pour 1.000 gr. — Ca/P : 1,40.

VII. — *Babeurres :*

a) *Gras.* — Calcium : 1,23 gr. pour 1.000 cc. — Phosphore : 0,966 gr. pour 1.000 cc. — Ca/P : 1,27.

b) *Maigres.* — Calcium : 0,540 gr. pour 1.000 cc. — Phosphore : 0,422 gr. pour 1.000 cc. — Ca/P : 1,28.

c) *Pulvérisés « reconstitués ».* — Calcium : 0,111 gr. pour 1.000 cc. — Phosphore : 0,075 gr. pour 1.000 cc. — Ca/P : 1,48.

VIII. — *Lait de chèvre.* — Calcium : 1,48 gr. pour 1.000 cc. — Phosphore : 1,12 gr. pour 1.000 cc. — Ca/P : 1,32.

IX. — *Lait de brebis.* — Calcium: 2,06 gr. pour 1.000 cc. — Phosphore : 1,50 gr. pour 1.000 cc. — Ca/P : 1,37.

X. — De l'examen de ces chiffres, il ressort que le lait de femme possède un rapport calcium-phosphore plus élevé que celui des autres laits frais, conservés ou modifiés. Il possède en outre une teneur plus faible en calcium et en phosphore. Si l'on se base sur les données du rachitisme expérimental, le lait de femme devrait être plus rachitigène que le lait de vache. Or c'est l'inverse qui se produit.

XI. — Comme, d'après les recherches effectuées jusqu'ici, le lait de femme contient une quantité négligeable de facteur antirachitique, la question reste à résoudre de savoir pourquoi le lait de femme protège le nourrisson contre le rachitisme.

Vu :
Le Doyen,
JEAN LEPINE.

Vu :
Le Président de la Thèse,
G. MOURIQUAND.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 20 Mai 1941.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ.
GAU.

BIBLIOGRAPHIE

- [1]. ABDERHALEN (E.). — Comparaison entre la composition des laits de chien, de chat et de lapin et la rapidité de croissance des jeunes animaux. — *Zeitsch. f. physiol. chem.*, 1899, T. 26, p. 487.
- Comparaison entre la composition des laits de lapin, de truie, de brebis, de chèvre et de cobaye et la rapidité de croissance des jeunes animaux. — *Zeitsch. f. physiol. chem.*, 1899, T. 27, pp. 408 et 594.
- [2]. BABONNEIX (L.). — Les régimes et l'enfant. — Masson, éd., Paris, 1936.
- [3]. BACKHAUS et CRONHEIM. — *Comptes rendus de l'Institut agronomique de Kœnigsberg*, 1898-1899, T. 55, pp. 61-72.
- [4]. BAGINSKY (A.). — De la pathologie du rachitisme. — *Virchows Arch.*, 1882, T. 87, p. 301. Cité in LABBÉ et FABRYKANT [69].
- [5]. BAHRDT (H.) et EDELSTEIN (F.). — Variations du taux de calcium dans le lait avec la durée de la lactation. — *Jahrb. Kinderheilk.*, 1910, T. 72, p. 18.
- [6]. BAUMANN (E.). — Sur le dosage du phosphore sanguin. — *J. Biol. chem.*, 1924, T. 59, p. 667.
- [7]. BELL (R. D.) et DOISY (E. A.). — Méthode colorimétrique rapide pour le dosage du phosphore dans l'urine et dans le sang. — *J. Biol. Chem.*, 1920, T. 44, p. 55.

- [8]. BETHKE (H.), RECORD et WILDER. — *J. Biol. Chem.*, 1935, T. 112, p. 231.
- [9]. BLAUBERG (M.). — Le métabolisme des éléments minéraux chez le nourrisson soumis à l'allaitement maternel. — *Z. Biol.*, 1900, T. 40, p. 36.
- [10]. BLANCHETIÈRE (A.). — Variations saisonnières de quelques éléments minéraux du lait. — *C. R. Soc. Biol.*, 1925, T. 92, p. 1295.
- [11]. BOAS (M. A.) et CHICK (H.). — Influence du régime de la vache laitière sur le métabolisme du calcium chez des rats nourris avec ce lait. — *Biochem. J.*, 1924, T. 18, p. 432.
- [12]. BOGGILD (B.). — *Mælkeritidende*, 1890, T. 3, p. 493.
- [13]. BORDAS (F.) et RACZKOWSKI (S.). — Variations de l'acide phosphorique suivant l'âge du lait. — *C. R. Ac. Sc.*, 1902, T. 135, p. 302.
- [14]. BRIGGS (A. P.). — Une modification de la méthode de Bell et Doisy pour le dosage des phosphates. — *J. Biol. Chem.*, 1922, T. 53, p. 13.
- [15]. BRUCK-BIESOK (V.), PIRQUET (C.) et WAGNER (R.). — Prophylaxie du rachitisme. — *Klin. Woch.*, 1927, T. 6, p. 952.
- [16]. BUNGE (G.). — *Z. Biol.*, 1874, T. 10, p. 295.
- [17]. BUNGE (G.). — Cité in GÉRARD [40].
- [18]. BUYS (DE) et VON MEYSENBURG (L.). — *Am. J. Dis. Child.*, 1924, T. 27, p. 438.
- [19]. CAMPION (J. E.), HENRY (K. M.), KON (S. K.) et MAC INSTOSH (R.). — Sources de vitamine D dans le lait d'été. — *Biochem. J.*, 1927, T. 31, p. 81.
- [20]. CHICK (H.) et ROSCOE (M. H.). — Influence de la lumière sur la quantité de vitamine A et D que contient le lait de vache. — *Biochem. J.*, 1926, T. 20, p. 632.

- [21]. CLARK (W. M.). — L'équilibre acido-basique et oxydo-réducteur du lait. — Chapitre VI de *Fundamentals of Dairy Science* de L. A. ROGERS et collaborateurs, 1928, p. 117, cité in ROGER et BINET [118].
- [22]. CŒUR (A.). — Contribution à la biochimie du rachitisme expérimental. *Thèse Pharm. Lyon*, 1936.
- [23]. COPAUX (H.). — Procédé rapide pour doser l'acide phosphorique. — *C. R. Ac. Sc.*, 1921, T. 173, p. 653.
- [24]. CORLEY (R. C.) et DENIS (W.). — Détermination du calcium dans les tissus, le lait et les fèces. — *J. Biol. Chem.*, 1925, T. 66, p. 601.
- [25]. COX (W. M.) et MUELLER (J. R. et A. J.). — La composition du lait provenant de rats d'élevage et description d'un appareil destiné à traire les petits animaux de laboratoire. — *J. Nut.*, 1937, T. 13, p. 249.
- [26]. CRAWFORD (M. E.), GOLDING (J.), PERRY (E. O.) et ZILVA (S. S.). — Les vitamines du lait solubles dans les graisses. — *Biochem. J.*, 1930, T. 24, p. 682.
- [27]. DESBARRIÈRES (E.). — *Thèse Pharm. Paris*, 1909, cité in BLANCHETIÈRE [10].
- [28]. DESOILLE-MERLHES (Mme H.). — Modification de quelques éléments minéraux du lait sous l'influence de la chaleur. — *Thèse Pharm. Paris*, 1929.
- [29]. DUCLAUX (E.). — *Ann. Institut Pasteur*, 1893, T. 7, p. 2, cité in PORCHER [110].
- [30]. DUTCHER (R. A.) et HONEYWELL (H. E.). — *Pennsylvania Agric. Exp. Station, Bull.* — 1927, p. 213.

- [31]. EDEL (Mme V.). — Recherches cliniques et thérapeutiques sur le rachitisme. — *Thèse Méd. Lyon*, 1939.
- [32]. ELIOT. — *Annual review of biochemistry*, 1936, T. 5, p. 301.
- [33]. FALKENHEIM (C.). — Effet des rayons U.V. sur les propriétés antirachitiques du lait. — *Klin. Woch.*, 1926, T. 5, p. 2071.
- [34]. FIESSINGER (N.), OLIVIER (H. R.) et HERBAIN (M.). — Les diagnostics biologiques. — Maloine, éd., Paris, 1929.
- [35]. FISKE (C. H.) et SUBARROW (Y.). — Dosages colorimétrique du phosphore. — *J. Biol. Chem.*, 1925, T. 66, p. 375.
- [36]. FLEISCHMANN. — In THORPE. *Dict. of app. chem.*, T. IV, p. 369, cité in BLANCHETIÈRE [10].
- [37]. FORSTER (J.). — Sur l'appauvrissement en chaux du corps et plus particulièrement des os, par suite d'un apport insuffisant de calcium. — *Zeitschr. Biol.*, 1876, T. 12, p. 464.
- [38]. FREIBEL (W.) et HILDESHEIM. — Importance des vitamines en laiterie. — *Molk. Z.*, 1923, n° 40. D'ap. *Le Lait*, 1924, T. 4, p. 47.
- [39]. GASSMANN (Th.). — Recherches chimiques sur les os sains et rachitiques. — *Z. Physiol. Chem.*, 1911, T. 70, p. 161. D'ap. *Chem. Abst.*, 1911, T. 5, p. 1290.
- [40]. GÉRARD (P.). — *Thèse Paris*, 1912.
- [41]. GERSTENBERGER (H. J.), HARTMAN (J. I.) et SMITH (G. N.). — *California and West. Med.*, 1927, T. 27, p. 40.
- [42]. GOLDBLATT (H.). — Rachitisme expérimental chez le rat, avec un régime déficient en phosphore et en facteur organique liposoluble. — *Biochem. J.*, 1924, T. 18, p. 414.

- [43]. GOWAN. — *Maine Agric. Exp. Station, Bull.* 328 (1925); *J. Agric. Research*, 1925, T. 30, p. 865.
- [44]. GUIGUES (P.). — L'alimentation au Liban. Le Leben. — *Le Lait*, T. 10, n° 82, p. 125.
- [45]. GUILLAUMIN (Ch.-O.). — Constatation expérimentale sur la mesure du calcium sanguin après séparation oxalique. Sa répartition entre les globules et le plasma ou le sérum. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1930, T. 12, p. 884.
- [46]. HAMAN. — La différence d'activité antirachitique des laits riches en vitamine D. — *J. Nut.*, 1935, T. 10, p. 653.
- [47]. HAMILTON (B.). — *Acta Paediat.*, 1922, T. 2, p. 1.
- [48]. HART (E. B.), STEENBOCK (H.), KLINE (O. L.) et HUMPHREY (G. C.). — Influence de la levure irradiée sur le métabolisme du calcium et du phosphore chez la vache laitière. — *J. Biol. Chem.*, 1930, T. 86, p. 145.
- [49]. HESS (A. F.), UNGER (L. J.) et PAPPENHEIMER (A.). — Guérison spontanée du rachitisme chez les rats. — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 1922, T. 19, p. 236.
- [50]. HESS (A. F.) et WEINSTOCK (M.). — De l'action comparée des laits de femme et de vache au point de vue antirachitique. — *Am. J. Dis. Child.*, 1927, T. 34, p. 845.
- [51]. HESS (A. F.), WEINSTOCK (M.) et SHERMAN (E.). — Propriétés antirachitiques communiquées au lait de femme par irradiation. — *J. Am. Med. Ass.*, 1927, T. 88, p. 24.
- [52]. HIRTH (A.). — Le dosage du calcium dans le plasma sanguin. — *C. R. Soc. Biol.*, 1923, T. 75, p. 458.
- [53]. HOLT (E. L.), COURTNEY (A. M.) et FALES (H. L.). — *Amer. J. Dis. Child.*, 1915, T. 10, p. 299, cité in WIDDOWS [159].

- [54]. HONEYWELL (H. E.) et DAHLE (C. D.). — Etude des vitamines. XVII. L'influence du lait cru et du lait condensé sur le développement des os. — *J. Nut.*, 1930, T. 2, p. 251.
- [55]. HONEYWELL (H. E.), DUTCHER (R. A.) et DAHLE (C. D.). — La vitamine D dans les laits évaporés. — *J Biol. Chem.*, 1927, T. 74, p. LXXVII.
- [56]. HUNAEUS. — Sur le contenu en calcium du lait de femme. — *Biochem. Z.*, 1909, T. 22, p. 442.
- [57]. JAVILLIER (M.) et DJÉLATIDÈS (D.). — Sur une méthode de microdosage volumétrique du phosphore et son application à l'analyse biologique. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1928, T. 10, p. 342.
- [58]. JEANS (P.). — La vitamine D du lait. La valeur relative des différentes sortes de laits riches en vitamine D pour les enfants. — *J. Am. Med. Ass.*, 1936, T. 106, p. 2066.
- [59]. JEPHCOTT et BACHARACH. — Effets de la dessiccation sur les vitamines du lait. — D'ap. *Brit. Med. Journ.*, 1930, T. 1, p. 261.
- [60]. JONES. — Action de l'acidité du régime sur le rachitisme. — *J. Am. Med. Ass.*, 1924, T. 82, p. 439.
- [61]. KASSOWITZ (M.). — Les échanges de phosphore dans le rachitisme. — *Zeitschr. Klin. Med.*, 1884, T. 7, pp. 36 et 93.
- [62]. KELLER (A.). — Le phosphore et son métabolisme chez le nourrisson. — *Arch. Kinderheilk.*, 1900, T. 29, p. 1.
- [63]. KENNEDY (C.) et PALMER (L. S.). — Lait de femme et rachitisme. — *Proc. Soc. Exp. Biol. et Med.*, 1925, T. 23, p. 230.
- [64]. KLERCKER (af) (K. O.). — *Proc. Cong. Pediat.*, Stockholm, 1921, p. 56.
- [65]. KLING (A.). — Méthodes actuelles d'expertises. — Dunot, éd., Paris, 1921.

- [66]. KLING (A.) et LASSIEUR (A.). — Détermination de l'acide phosphorique des laits et son application à la recherche du mouillage. — *Ann. Fals. Fr. Paris*, 1923, T. 16, n° 174, p. 141.
- [67]. KRAMER (M. M.) et TISDALL. — *Zeitschr. f. Kinderheilk.*, 40, p. 671.
- [68]. KRAMER (M. M.), WYMAN et GERSTENBERGER. — Le lait de vache antirachitique. — *J. Am. Med. Ass.*, 1935, T. 104, p. 816.
- [69]. LABBÉ (M.) et FABRYKANT (M.). — Le phosphore. — Masson, éd., Paris, 1933.
- [70]. LAMBLING (E.). — Précis de biochimie. — Masson éd., Paris, 1921.
- [71]. LAMPITT (L. H.) et BUSHILL (J. H.). — Dialyse du lait. II: Etude de quelques facteurs agissant sur la répartition du calcium et du phosphore. — *Biochem. J.*, 1934, T. 28, p. 1305.
- [72]. LANGE (C. DE). — De la composition des cendres du nouveau-né et du lait maternel. — *Z. Biol.*, 1900, T. 40, p. 526.
- [73]. LAUDAT. — Le dosage du chlore sanguin et des liquides albumineux de l'organisme. — *J. P. C.*, 1917, T. 16, p. 169.
- [74]. LAVIALLE (P.). — Le facteur C dans le lait de vache. Ses rapports avec la concentration, l'homogénéisation et la stérilisation. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1927, T. 9, p. 214.
- [75]. LENSTRUP (E.). — La teneur en phosphore du lait humain et du lait de vache. — *J. Biol. Chem.*, 1926, T. 70, p. 193.
- [76]. LEPRINCE (M.) et LECOQ (R.). — Guide pratique d'analyses alimentaires et d'expertises chimiques usuelles. — Vigot fr., éd., Paris, 1930.
- [77]. LESNÉ (E.) et VAGLIANO (H.). — De l'influence du lait de femme sur le rachitisme expérimental. — *C. R. Soc. Biol.*, 1924, T. 91, p. 143.

- [78]. LEULIER (A.) — Application de la formollitration au dosage de l'acide phosphorique précipité à l'état de phosphomolybdate d'ammonium. — *Bull. Pharm. Est.*, 1923, janvier, p. 3.
- [79]. LEULIER (A.), VELLUZ (L.) et GRIFFON (H.). — Sur le microdosage du potassium dans les milieux biologiques. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1928, T. 10, p. 1238.
- Sur le microdosage du potassium sous forme de cobaltinitrite. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1928, T. 10, p. 891.
- [80]. LINDBERG (G.). — *Z. Kinderheilk.*, 1917, T. 16, p. 90.
- [81]. LUCE (E. M.). — Influence de l'insolation et de la nourriture de la vache sur les propriétés anti-rachitiques du lait. — *Biochem. J.*, 1924, T. 18, pp. 717 et 1279.
- [82]. LYMAN (H.). — Une méthode rapide de dosage du calcium dans le sang et le lait. — *J. Biol. Chem.*, 1917, T. 29, p. 169.
- [84]. MAC COLLUM (E. V.), SIMMONDS (N.), SHIPLEY (P.) et PARK (E.). — Etude du rachitisme expérimental. XXVII. Variations de la teneur en vitamine D du beurre. — *J. Biol. Chem.*, 1926, T. 70, p. 437.
- Etude du rachitisme expérimental XV. Effets du jeûne sur la guérison du rachitisme. — *Bull. Johns. Hopk. Hosp.*, 1922, T. 33, p. 31.
- Etude du rachitisme expérimental. X. Rachitisme et maladies à allure rachitique produites chez le rat par des régimes. — *Dental. Cosmos.*, 1922, T. 64, p. 265. — D'ap. *Chem. Abst.*, 1922, T. 66, p. 2888.
- Etude du rachitisme expérimental. VIII. La production du rachitisme par des régimes pauvres en phosphore et en vitamine A. — *J. Biol. Chem.*, 1921, T. 47, p. 507.

- [85]. MAC COLLUM (E. V.), SIMMONDS (N.) et STEENBOCK (A.). — Rôle des vitamines du lait. — *J. Biol. Chem.*, 1917, T. 29, Proc. XXVI.
- [86]. MAC CRUDDEN (F. H.). — Dosage du calcium en présence de magnésium et de phosphates. Le dosage du calcium dans l'urine. — *J. Biol. Chem.*, 1911-12, T. 10, p. 187.
- [87]. MACHEBŒUF (M. A.). — Méthode permettant le dosage exact du phosphore dans de petites quantités de sang. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1926, T. 8, p. 644.
- [88]. MARFAN (A.-B.). — Traité de l'allaitement. — Masson, éd., Paris, 1930.
- [89]. MARTLAND (M.) et ROBISON (R.). — Notes sur le dosage du phosphore sanguin. — *Biochem. J.*, 1924, T. 18, p. 765.
- [90]. MASSOT (A.) et LESTRA (H.). — Le dosage des chlorures dans les laits. — *B. S. P.*, 1935, T. 43, p. 523.
- [91]. MELLANBY (E.). — Rachitisme expérimental. — *Lancet*, 1919, T. 196, p. 407.
- [92]. MICHEL et PERRET. — *L'Obstétrique*, 15 mars 1896 et 15 nov. 1897 ; *Bull. Soc. Obstétrique*, séance du 16 mars 1899 (d'ap. *Arch. Kinderheilk.*, T. 29, p. 1) ; *L'Union Pharm.*, 1898, p. 385 ; *Les Progrès de la Médecine*, T. 17, p. 445.
- [93]. MOURIQUAND (G.) et LEULIER (A.). — In Roger et Binet (118).
- [94]. MOURIQUAND (G.) et LEULIER (A.). — Congrès français de médecine. XXI^e session. Liège, 1930. Rapport II, p. 35.
- [95]. MOURIQUAND (G.) et LEULIER (A.). — Le rapport calcium-phosphore dans la genèse du rachitisme expérimental et du rachitisme humain. — *C. R. Ac. Sc.*, 1934, T. 198, p. 208.

- [96]. MOURIQUAND (G.) et LEULIER (A.). — Recherches sur les fixateurs du calcium. L'hélistérine irradiée et son pouvoir antirachitique. — *Presse Méd.*, 1929, p. 1261.
- MOURIQUAND (G.), LEULIER (A.), BERNHEIM (H.) et SHOEN (Mlle J.). — Recherches sur les fixateurs du calcium. — *Presse Méd.*, 1928, p. 209.
- MOURIQUAND (G.), LEULIER (A.), BERNHEIM (H.) et WEILL (Mlle L.). — Recherches sur les anti-fixateurs du calcium. — *Presse Méd.*, 1931, n° 42, 27 mai.
- [97]. MOURIQUAND (G.), LEULIER (A.) et CŒUR (A.). — Recherches sur la pathogénie du rachitisme. — *Ann. Médecine*, 1938, T. 43, p. 165.
- [98]. MOUSSU. — Communication au Congrès de la tuberculose (1898).
- [99]. MYERS (B.). — Les variations de la composition du lait de femme. — *Ber. Ges. Physiol. Pharmac.*, 1928, T. 45, p. 608 ; in *Le Lait*, 1930, T. 10, p. 437.
- Recherche sur la composition chimique du lait de femme. — *Brit. Journ. Child. Diseases*, 1927, T. 24, n° 286-288.
- [100]. NEUMANN (S.). — Minéralisation avant le dosage des lipoïdes phosphorés. — *Arch. für. Physiol.*, 1907, p. 208.
- [101]. ORLA-JENSEN (S.). — *Landw. Jahrb. Schweiz.*, 1905, T. 19, p. 530. — Cité in LENSTRUP [75].
- [102]. OSBORNE (T. B.), MENDEL (L. B.) et PARK (E. B.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 1923-24, T. 21, p. 87. — Cité in OUTHOUSE, MACY et BREKKE [103].
- [103] OUTHOUSE (J.), MACY (I. G.) et BREKKE (V.). — Etude comparative de la proportion des facteurs antirachitiques dans le lait humain et dans le lait de vache. — *J. Biol. Chem.*, 1928, T. 78, p. 129.

- [104]. PACCARD (R.). — Etudes sur le lait de femme. Composition chimique. Organisation de la vente. Recherches des falsifications. — *Thèse Pharm. Lyon*, 1937.
- [105]. PAGÈS (C.). — Physiologie de la matière minérale du lait. — *Thèse Sc. Nat. Paris*, 1894.
- [106]. PARIHON (C. I.), CERNATESCO (R.) et ORNSTEIN (I.). — Sur la richesse en calcium du lait et du sérum sanguin chez les chiennes thyroparathyroïdectomisées. — *C. R. Soc. Biol.*, 1933, p. 323.
- [107]. PELLERIN (G.). — Guide de l'expert chimiste en denrées alimentaires. — Maloine, éd., Paris, 1928.
- [108]. PORCHER (Ch.). — La méthode synthétique de l'étude du lait. — *Le Lait*, 1931, T. II, p. 1.
- [109]. PORCHER (Ch.). — *Ann. Fals. Fr.*, 1920, T. 12, p. 78.
- [110]. PORCHER (Ch.) et CHEVALLIER (A.). — Répartition des matières salines dans le lait. — *Le Lait*, 1923, p. 98.
- [111]. POSTERNAK (S.). — De la technique du dosage de l'acide phosphorique à l'état de phosphomolybdate de baryum. — *Bull. Soc. Chim.*, 1920, T. 27, p. 564.
- Sur le dosage de petites quantités d'acide phosphorique à l'état de phosphomolybdate de baryum en présence et en l'absence de phosphore en combinaison organique. — *Bull. Soc. Chim.*, 1920, T. 27, p. 507.
- [112]. RAGSDALE (A. C.) et TURNER (C. W.). — *J. of Dairy Sc.*, 1922, T. 5, p. 544.
- [113]. RANDOIN (Mme L.) et LECOQ (R.). — Constitution d'un nouveau régime artificiel pour l'étude du rachitisme expérimental. — *C. R. Soc. Biol.*, 1927, T. 97, p. 1277.

- [114]. *Rapport annuel* du Laboratoire de Pharmacologie à la Société de Pharmacie : d'ap. La Standardisation biologique des drogues. — *Brit. Med. Journ.*, 1930, T. 1, p. 507.
- [115]. RAUSCHNING (S.). — Dosage du calcium dans le lait. I. Dosage dans le sérum déféqué à l'acide trichloracétique. — *Milchwirtsch. Forsch.*, 1932, T. 12, p. 482.
- [116]. RICE (F. E.). — Lait concentré et lait desséché au point de vue nutritif. — *Ind. Eng. Chem.*, 1930, T. 22, p. 45.
- [117]. RICHARDS. — Cité in HIRTH [52].
- [118]. ROGER (G. H.) et BINET (L.). — *Traité de physiologie normale et pathologique*, T. XII. — Masson, éd., Paris, 1940.
- [119]. ROSSI. — Les variations du taux de calcium dans le lait de femme. — *La Clinica Pediatrica*, 1934, n° 10.
- [120]. ROTHWELL (C. S.). — Précipitation directe du calcium du lait de vache. — *J. Biol. Chem.*, 1925, T. 65, p. 129.
- [121]. ROTHWELL (C. S.). — Précipitation directe du calcium du lait humain. — *J. Biol. Chem.*, 1927, T. 75, p. 23.
- [122]. SANDERS (G. P.). — Le dosage du calcium, du magnésium, du phosphore soluble dans les acides du lait par l'acide trichloracétique. — *J. Biol. Chem.*, 1931, T. 90, p. 747.
- [123]. SCHABAD (J. A.). — Teneur en chaux du lait maternel. Etude de l'ingestion insuffisante du calcium comme facteur de rachitisme. — *Jahrb. Kinderheilk.*, 1912, T. 74, p. 511.
- [124]. SCHALL (A.). — Cité in BABONNEIX [2].
- [125]. SCHLOSS (E.). — Variations du taux de phosphore dans le lait de femme. — *Monatsch. Kinderheilk.*, 1911, T. 30, p. 288.

- [126]. SCHLOSSMANN (A.). — Etude sur l'alimentation naturelle du nourrisson. — *Arch. Kinderheilk.*, 1900, T. 30, p. 288 ; 1902, T. 33, p. 338.
- [127]. SCHLOSSMANN (A.). — Quantité, forme et signification du phosphore du lait et le métabolisme de celui-ci chez le nourrisson. — *Arch. Kinderheilk.*, 1905, T. 40, p. 1.
- [128]. SCHEPANG (W.). — Dissertation. — *Leipsic*, 1917, cité in LENSTRUP [75].
- [129]. SCHRODT (M.) et HAUSEN (H.). — *Landw. Ver. Sta.*, 1885, T. 31, p. 55.
- [130]. SHEEHY (E. J.). — L'origine de la graisse du lait et sa relation avec le métabolisme du phosphore. — *Biochem. J.*, 1921, T. 15, p. 703.
- [131]. SHERMAN (H.). — Cité in TELFER [144].
- [132]. SHERMAN (H.) et PAPPENHEIMER (A.). — Rachitisme expérimental chez le rat. Régime produisant le rachitisme chez le rat blanc et sa prévention par addition d'un sel minéral. *J. Experiment. Med.*, 1921, T. 34, p. 189.
- [133]. SHOHL (A.). — Cité in *J. Am. Med. Ass.*, 1937, T. 109, p. 30.
- [134]. SHOHL (A.), BROWN (H.), ROSE (C.) et SAUERWEIN (E.). — Quelles sortes de rachitisme produisent chez le rat les variations du rapport du calcium au phosphore du régime ? — *J. Biol. Chem.*, 1932, T. 97, Proc. X.
- [135]. SIKES (A. W.). — *J. Physiol.*, 1906, T. 34, p. 464.
- [136]. SOLDERS. — Cité in *Dict. Richet*, T. 9, p. 811.
- [137]. SÖLDNER (F.). — Le taux du phosphore dans le lait. — *Z. Biol.*, 1896, T. 33, p. 43.
- [138]. STEENBOCK (H.) et BLACK (A.). — Les vitamines solubles dans les graisses. XXIII. Accroissement du facteur de croissance et de recalcification contenu dans les graisses, et de leur insaponifiable par exposition à la lumière. — *J. Biol. Chem.*, 1925, T. 64, p. 263.

- [139]. STEENBOCK (H.), HART (E. B.), HOPPERT (C. A.) et BLACK (A.). — Les vitamines solubles dans les graisses. XXVI. Le pouvoir antirachitique du lait et son augmentation par l'irradiation directe et par l'irradiation de l'animal. — *J. Biol. Chem.*, 1925, T. 66, p. 441.
- [140]. STEENBOCK (H.), HART (E. B.), RIISING (B. M.), HOPPERT (C. A.), BASHEROV (S.) et HUMPHREY (G. C.). — Les vitamines solubles dans les graisses. XXVIII. La valeur antirachitique du lait de vache lorsqu'il est modifié par l'exposition de la vache aux rayons solaires et aux radiations provenant d'une lampe de quartz à vapeurs de mercure. — *J. Biol. Chem.*, 1930, T. 87, p. 103.
- [141]. STOKLASA (J.). — *Z. Physiol. Chem.*, 1897, T. 23, p. 343.
- [142]. STRANSKY (E.). — Etude du contenu du lait de femme. — *Chemisch. Centralblatt.*, 1927, T. 1, p. 1178, cité in KRAMER et TISDALL [67].
- [143]. SUPPLEE (G. C.) et DOW (O. D.). — Les propriétés antirachitiques et recalcifiantes des laits secs d'été et d'hiver, irradiés et non irradiés. — *J. Biol. Chem.*, 1927, T. 73, p. 617.
- [144]. TELFER (S.). — Le contenu minéral du lait humain dans les familles saines et dans les familles rachitiques. — *Biochem. J.*, 1924, T. 18, p. 809.
- [145]. TRILLAT et FORESTIER. — *B. S. C.*, T. 29, p. 287, cité in VILLIERS, COLLIN et FAYOLLE [152].
- [146]. TRUNZ (A.). — *Z. Physiol. Chem.*, 1903-04, T. 40, p. 263.
- [147]. VAN SLYKE (L. L.). — *J. Am. Chem. Soc.*, 1908, T. 30, p. 1166, cité in BLANCHETIÈRE [10].

- [148]. VAN SLYKE (L. L.) et BOSWORTH (A. W.). — Teneur du lait en caséine et en sels. — *J. Biol. Chem.*, 1915, T. 20, p. 135.
- Les échanges chimiques dans la fermentation du lait. — *J. Biol. Chem.*, 1916, T. 24, p. 191.
- [149]. VELLUZ (L.) et DESCHAZEUX (R.). — Recherches sur le microdosage du calcium. — *C. R. Soc. Biol.*, 1930, T. 104, p. 976.
- [150]. VELLUZ (L.) et DESCHAZEUX (R.). — Technique du microdosage du calcium dans le sérum sanguin. — *C. R. Soc. Biol.*, 1930, T. 104, p. 977.
- [151]. VILLETTE (H.). — Action comparée des bacilles lactiques de quelques composés du phosphore et de l'ergostérol irradié dans le traitement du rachitisme expérimental. — *Thèse Pharm. Paris*, 1934.
- [152]. VILLIERS (A.), COLLIN (E.) et FAYOLLE (M.). — Traité des falsifications et altérations des substances alimentaires. Aliments lactés et aliments gras. — Doin et Fils, éd., Paris, 1911.
- [153]. VÖLTZ (W.), KIRSH (W.) et FALKENHEIM (C.). — Pouvoir antirachitique du lait d'une vache exposée aux rayons U.V. *b*) Recherches expérimentales. — *Klin. Woch.*, 1926, T. 5, p. 2072 ; *Landw. Jahrb.*, 1927, T. 65, p. 375.
- [154]. VON WENDT (G.). — Dissertation. — *Leipsic*, 1908, cité in LENSTRUP [75].
- [155]. WADDELL (J.). — La provitamine D du cholestérol. I. Le pouvoir antirachitique du cholestérol irradié. — *J. Biol. Chem.*, 1934, T. 105, p. 711.
- [156]. WATCHELL. — La vitamine D produite par l'irradiation de la levure donnée comme alimentation aux vaches. — D'ap. *J. Am. Med. Ass.*, 1937, T. 108, p. 1814.

- [157]. WEGNER (G.). — De l'influence du phosphore sur l'organisme. — *Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin Med.*, 1872, T. 55, p. 11.
- [158]. WEISKE (H.) et WILDT (E.). — Recherches sur la formation des os avec une nourriture pauvre en chaux ou en acide phosphorique. *Zeitschr. Biol.*, 1873, T. 9, p. 541.
- [159]. WIDDOWS (S.), LOWENFELD (M.), BOND (M.) et TAYLOR (E.). — Etude de la composition du lait humain dans la dernière période de la lactation. Comparaison avec le premier lait. — *Biochem. J.*, 1930, T. 24, p. 326.
- [160]. YOUNG (E. G.) et GRANT (G. A.). — La composition du lait de renard. — *J. Biol. Chem.*, 1931, T. 93, p. 805.

TABLE DES MATIERES

Plan du travail	11
Introduction	13
Le Calcium dans les laits	19
Le Phosphore dans les laits	37
Le Rapport calcium-phosphore dans les laits	51
Comparaison entre les propriétés antirachitiques des laits	59
Conclusions générales	69
Bibliographie	73

IMPRIMERIE
BOSC FRÈRES. M. & L. RIOU
42, QUAI GAILLETON. 42
LYON

